

jfi Jurnal Farmasi Indonesia



Fibraurea tinctora



Vol. 12 No. 2, Juli 2020

e-ISSN: 2355-696x
p-ISSN: 1412-1107

Assessment of Health-Related Quality of Life with Patient Chronic Kidney Disease

Fajriansyah^{1*}, Mujriah¹, Zulfahmidah²

Artikel Penelitian

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi,
Makassar, Sulawesi Selatan

²Fakultas Kedokteran
Universitas Muslim Indonesia,
Makassar, Sulawesi Selatan

Korespondensi:

Fajriansyah
fajriansyah.fajrin@yahoo.com

Abstract: Measuring the quality of life can be used as a reference for the success of an action or therapy as well as initial data in formulating the right action for the patient. This study aims to provide an overview of the quality of life of patients with chronic renal failure who seek treatment at the Hasanuddin University hospital. The research design used was an observational cross-sectional design with data collection carried out by filling out a questionnaire prospectively. The subjects of the study were chronic renal failure patients undergoing hemodialysis who met the inclusion criteria and were selected using a non-random sampling technique by means of total sampling. The patient's quality of life was measured using the Kidney Disease Quality of Life Short Form (KDQOL-SF™) Indonesian version 1.3 questionnaire. A total of 30 patients were willing to participate in this study. The results of the study on 30 patients with chronic renal failure, there were 7 out of 19 scale/item having a not good, namely burden of kidney disease, work status, sleep, physical functioning, role-physical, pain, and general health. The average value of 19 scale/item shows an average score of > 59.37, which is 63.86 which belongs to the good quality of life category.

Keywords: health related quality of life, chronic kidney disease, KDQoL

Introduction

The prevalence of Chronic Kidney Disease (CKD) is increasing globally, though regional disparities exist. It is increasing worldwide at an annual growth rate of 8% [1]. Epidemiologic studies have shown that the incidence of kidney diseases is higher in the developing countries than in the developed world. Based on the results of the Basic Health Research (RISKESDAS) of the Ministry of Health of the Republic of Indonesia in 2013, the prevalence of chronic kidney failure based on a doctor's diagnosis in Indonesia is 0.2%. The highest prevalence was in Central Sulawesi at 0.5%, followed by Aceh, Gorontalo, and North Sulawesi with 0.4% each. Meanwhile East Nusa Tenggara, South Sulawesi, Lampung, West Java, Central Java, DI Yogyakarta, and East Java each had 0.3%. North Sumatra Province at 0.2% [2].

Chronic kidney disease (CKD) causes sufferers to be unable to get rid of body fluids and results from the rest of the body's metabolism. If CKD is too severe, then the patient must undergo hemodialysis therapy (dialysis) at least twice a week (Suhardjono et al., 2001). Hemodialysis

(HD) is a kidney replacement therapy that uses a special tool with the aim of removing uremic toxins and regulating body electrolyte fluids (KEMENKES RI, 2010). In Indonesia, hemodialysis is performed 3 times a week with a duration of 4-5 hours of dialysis. [3]. Another problem that a patient has to deal with is like a problem financial problems, difficulty keeping a job, missing sexual mistakes, depression, and fear of death. A planned lifestyle relates to therapeutic hemodialysis therapy (eg implementation of hemodialysis therapy 2-3 times a week for 3-4 hours) and keeps the fluid of the fluid taking the spirit alive patient. This will affect the quality of life of CKD patients [4].

Quality of life becomes an important measure after patients undergo renal replacement therapy such as hemodialysis or a kidney transplant. The quality of life of patients undergoing hemodialysis is decreasing because the patient not only faces health problems associated with chronic kidney disease but is also associated with lifelong therapy, as a result, the quality of life for patients undergoing hemodialysis is lower than the average individual. HD therapy will also affect the patient's psychological state. Patients will

experience disturbances in thinking and concentration processes as well as disturbances in social relations. All of these conditions will cause a decrease in the quality of life of CKD patients who undergo HD therapy [5]. In particular, patients will experience physical suffering, limitations in daily activities [5].

In addition, quality of life measurement can also be a reference for an action/intervention or therapy. In addition, data on quality of life can also be preliminary data for consideration of formulating appropriate interventions/actions for patients [6]. There are several questionnaires used to measure the quality of life, one of which is the Kidney Disease Quality of Life Short Form (KDQOL-SF™) questionnaire which has been recognized for its benefits in the medical world. KDQOL SF is a measure of the overall quality of life of patients with renal failure both physically, mentally, and socially [7].

Hasanuddin University Hospital, which is one of the health service facilities as a place of referral for chronic kidney failure patients and provides hemodialysis services. Based on the results of the initial survey conducted at the Hasanuddin University Hospital, it was stated that the number of patients undergoing hemodialysis in October 2017 was 48 patients. This study aims to see an overview of the quality of life of patients with kidney failure who seek treatment at Hasanuddin University Hospital using a kidney disease-specific tool (Kidney Disease Quality of Life (KDQOL-SF™)).

Methods

The design of this study was an observational cross-sectional design with data collection carried out by filling out a questionnaire prospectively. This research has been submitted to the Health Research Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Muslim University of Indonesia, and has been approved with the ethical approval recommendation number 996 / KEPK-UMI / XI / 2017.

The subjects in this study were chronic renal failure patients undergoing hemodialysis who met the inclusion criteria and were selected using nonrandom sampling techniques by means of total sampling. The inclusion criteria in this study were: patients undergoing routine hemodialysis

2-3 times a week, aged 20-64 years, willing to participate in the study by signing an informed consent form. The exclusion criteria in this study were that the patient control schedule was not fixed, the patient's medical record data was incomplete and the patient was unconscious.

Materials and data sources used in this study are primary data obtained by filling out questionnaires by patients and secondary data obtained from patient medical records. The data collection process was carried out by interviewing patients and using a tool in the form of a questionnaire filled out by patients who were willing to become respondents. The research tools used were the informed consent sheet, the patient's personal datasheet, and Kidney Disease Quality of Life Short Form (KDQOL-SF™) Indonesian version 1.3 questionnaire. The collected data is processed by checking the completeness of the data, then the analysis of the answers to the questionnaire consisting of 24 questions is given a score, then the score is converted into numbers 0-100. Assessment of quality of life, in general, is an average of all aspects and is interpreted according to a scale: Quality of life is good (mean score of 19 scale KDQOL-SF 1.3 > 59.37), and quality of life is poor (mean score of 19 scale KDQOL-SF 1.3 ≤ 59.37).

Result and Discussion

A total of 30 patients who met the inclusion criteria were willing to participate in this study. Patient sociodemographic data can be seen in **Table 1**.

Gender was suggested as a non-modifiable predictor of the risk of initiation and progression of chronic kidney disease. The incidence of terminal renal failure has been reported to be greater in men. Female gender was associated with slower progression of chronic kidney disease, better kidney protection, and better patient clinical outcome [8]. Increasing a person's age has an impact on decreasing body functions so that they are more susceptible to disease. Increasing patient age is also related to the prognosis of a disease and life expectancy. Patients over 55 years of age are more likely to develop complications that can aggravate kidney function to work compared to patients under 40 years of age.

Table 1. Sociodemographic characteristics

Characteristics	n	Percentage (%) (%)
Gender		
Female	10	33,33
Male	20	66,67
Age		
18 – 44 years	14	46,67
45 – 64 years	16	53,33
Level of last education		
Elementary school	2	6,67
Junior and high school	13	43,33
University	15	50
Occupation		
Not working/retired	13	43,33
Working	17	56,67
Long suffered		
≤8 months	5	16,67
>8 months	25	83,33

This is in accordance with research conducted by Gweon et al (2019) which shows that the majority of respondents are from college, the higher the level of education of a person, the awareness of the importance of health and treatment of the health problems they face will also be more likely to think positively [9]. The latest education status also affects the economic and social resources achieved, so that a paradigm appears that a low level of education results in an individual having low knowledge of their own health and increases the risk of chronic kidney disease [7]. Patient characteristics based on the length of time undergoing hemodialysis were classified as less than 8 months and 8 months or more, which refers to the study of Anees, et al (2011) [10]. The results of the long-suffering characteristics > 8 months were 25 patients (83.33%) and <8 months were 5 patients (16.67%). The results of measuring the quality of life in this study can be seen in **Table 2**.

Our study shows a clear decrement in quality of life associated with CKD. The finding is consistent with previous studies that focused on those with established disease regardless of the instruments used to measure quality of life [11-13]. In **Table 2** it shows the total mean final score of 12 scale (item) of quality of life for CKD patients in Hasanuddin University hospital showing that the category of good quality of life and the final

score of 7 scale (item) indicates that the category not good quality of life. 7 scale (item) show poor quality categories, namely burden of kidney disease, work status, sleep, physical functioning, role-physical, pain, and general health.

Category not good quality of life was also shown in sleep quality and sexual dysfunction. CKD patients in this study experienced sleep disturbances at night. Changes in the fulfillment of needs for rest and sleep experienced by hemodialysis patients. Sleep cannot be fulfilled due to a reason, namely, discomfort, restlessness during sleep and not knowing what feelings cause him to not sleep. Sexual dysfunction as a result of conditions that are not possible for strength and body condition is not healthy. In hemodialysis patients who experience sexual dysfunction disorders, sexual dysfunction occurs in end-stage renal failure patients with hemodialysis, these patients generally receive antidepressant therapy, where these drugs can have the effect of reducing libido and ejaculation in men [14].

According to Gonçalves et al (2015), the scale (item) of not good quality of life is also shown in the role / emotional limitations, in addition to being anxious because of the amount of time being reduced, shortening the time for work and activities, also not being as careful/thorough in completing their work as before [15].

Table 2. Quality of life measurement results

Scale (item)	Average $\pm$ SD	Category
Symptoms	71,78 $\pm$ 10,17	Good
Effects of kidney disease	68,33 $\pm$ 10,24	Good
Burden of kidney disease	59,21 $\pm$ 17,53	Not good
Work status	59,21 $\pm$ 28,33	Not good
Cognitive function	73,56 $\pm$ 17,55	Good
Quality of social interaction	78,39 $\pm$ 10,45	Good
Sexual function	62,00 $\pm$ 25,37	Good
Sleep	59,36 $\pm$ 12,00	Not good
Social support	66,67 $\pm$ 10,72	Good
Dialysis staff encouragement	82,92 $\pm$ 10,63	Good
Patient satisfaction	80,56 $\pm$ 12,44	Good
Physical functioning	58,00 $\pm$ 18,32	Not good
Role-physical	27,50 $\pm$ 25,72	Not good
Pain	57,92 $\pm$ 15,33	Not good
General health	52,40 $\pm$ 10,93	Not good
Emotional well-being	61,11 $\pm$ 24,89	Good
Role-emotional	72,27 $\pm$ 8,72	Good
Social function	71,33 $\pm$ 20,51	Good
Energy/fatigue	61,67 $\pm$ 10,93	Good
Average	63,86	

Patients with kidney failure undergoing hemodialysis experience symptoms such as tingling limbs, muscle aches, fatigue, and disruption in certain activities. The decreased physical quality was expressed by the patient since being sick and undergoing hemodialysis therapy due to physical weakness so that all activities decreased and were limited according to the conditions. This is in accordance with research conducted by Mardyaningsih (2014) which states that physical weakness will affect participant activities so that participants will limit their energy according to circumstances [14].

Conclusion

There are 7 scale 9 item that have a not good quality of life category, namely burden of kidney disease, work status, sleep, physical functioning, role-physical, pain, and general health. The average value of 19 scale/item shows an average score of > 59.37, which is 63.86 which belongs to the good quality of life category.

Acknowledgments

We would like to thank all participants who has supported this study.

References

1. Alebiosu CO, Ayodele OE. The global burden of chronic kidney disease and the way forward. *Ethn Dis*. 2005;15(3):418–423.
2. Ministry of Health RI. Basic health research (Risksdas) 2013. Indonesian Agency for Health Research and Development (downloaded November 2017). available: http://www.depkes.go.id/resources/download/general/HasilRis_kesdas2013.pdf.
3. Suhardjono., Lydia, A., Kapojos, E. J., Sidabutar, R. P. (2001). Chronic renal failure: disease textbook in volume II, third edition. Jakarta: FK UI.
4. Brunner and Suddarth. (2013) Medical Surgical Nursing Issue 12. Jakarta; EGC.
5. Mailani Fitri, 2015. Quality of Life Chronic Kidney Disease undergoing Hemodialysis. *Ners Jurnal keperawatan* Vol 11 No 1. ISSN 1907-686X.
6. Post, J.B., et al., 2010. Cognitive profile of chronic kidney Disease and Hemodialysis Patient without Dementia *Nephron Clin Pract*,

- 116,c247-c255.
7. Putri,R et al 2014. An overview of the quality of life of chronic renal failure patients undergoing continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis therapy at Arifin Achmad Hospital, Riau Province using the KDQOL-FSFTm questionnaire.
8. Brown, L.J., Clark, P.C., Armstrong, K.A., Liping, Z.Z., Dunbar, S.B., 2010, Identification of Modifiable Chronic Kidney Disease Risk Factors by Gender In an African-American Metabolic Syndrome Cohort. *Nephrol Nurs J*; 37(2): 133–142.
9. Gweon TG, Jung SH, Kim SW, Lee KM, Cheung DY, Lee BI, Choi H. Risk factors for peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis who undergo colonoscopy: a retrospective multicentre study. *BMC Gastroenterol*. 2019 Nov 6;19(1):175. doi: 10.1186/s12876-019-1081-2. PMID: 31694579; PMCID: PMC6836509.
10. Anees, M., Hameed, F., Mumtaz, A., Ibrahim, M., Khan, M.N.S., 2011, Dialysis-Related Factors Affecting Quality of Life in Patients on Hemodialysis, *IJKD*;5:9-14.
11. Lee H, Oh YJ, Kim M, Kim H, Lee JP, Kim S, et al. The association of moderate renal dysfunction with impaired preference-based health-related quality of life: third Korean national health and nutritional examination survey. *BMC Nephrol*. 2012;13:19. pmid:22530944.
12. Mujais SK, Story K, Brouillette J, Takano T, Soroka S, Franek C, et al. Health-related quality of life in CKD Patients: correlates and evolution over time. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009;4(8):1293–301. pmid:19643926.
13. Aggarwal HK, Jain D, Pawar S, Yadav RK. Health-related quality of life in different stages of chronic kidney disease. *QJM*. 2016;109(11):711–6. pmid:27118872.
14. Mardyaningsih, P. D., 2014. Quality of Life for Patients with Chronic Kidney Failure.
15. Gonçalves FA, Dalosso IF, Borba JM, Bucaneve J, Valerio NM, Okamoto CT, Buchares SG. Quality of life in chronic renal patients on hemodialysis or peritoneal dialysis: a comparative study in a referral service of Curitiba - PR. *J Bras Nefrol*. 2015 Oct-Dec;37(4):467-74. English, Portuguese. doi: 10.5935/0101-2800.20150074. PMID: 26648496.

Aplikasi Pengembangan Metode Spektrofotometri UV-Vis pada Analisis Simultan Isoniazid (INH) dan Vitamin B6 di dalam Sediaan Tablet

Lisda Rimayani Nasution^{1*}, Muchlisyam¹, Effendy De Lux Putera¹

Artikel Penelitian

Abstract: Primary antituberculosis as the standard therapy of tuberculosis are often used in combination dosage form. It's used to obtain effectiveness treatment and prevent the emergence of resistance. One form of this combination is a combination of INH and vitamin B6. This combination aims to prevent the side effects of INH, namely peripheral neuritis. The combination could give problems in quality control. The aims of this research is to develop a spectrophotometric method by mean centering of ratio spectra to analysis simultaneous isoniazid and vitamin B6 in tablet dosage form without prior separation. Research carried out by development of spectrophotometric method to applied determining the levels of isoniazid and vitamin B6 in tablet by mean centering of ratio spectra. Then, tested its validity based on linearity, accuracy, precision, LOD and LOQ. The results showed that applications mean centering of ratio spectra technique on assay of isoniazid and vitamin B6, have successfully applied to analyze pharmaceutical formula simultaneously with no interference from excipients as indicated by all validation parameters were within the acceptable range.

Keywords: isoniazid (INH), vitamin B6 (pyridoxin HCl), mean centering of ratio spectra (MCR)

Abstrak: Obat anti tuberkulosis primer sebagai standar terapi tuberkulosis sering digunakan dalam bentuk kombinasi untuk memperoleh efektivitas pengobatan dan mencegah timbulnya resistensi. Salah satu bentuk kombinasi tersebut adalah kombinasi INH dan vitamin B6. Kombinasi ini bertujuan untuk mencegah efek samping dari INH yaitu neuritis perifer. Namun, kombinasi bahan aktif tersebut dapat menimbulkan masalah dalam analisis kuantitatif untuk kontrol kualitas sediaan. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode spektrofotometri UV-Vis secara *mean centering of ratio spectra* pada analisis isoniazid dan vitamin B6 secara simultan pada sediaan tablet tanpa adanya pemisahan. Penelitian dilakukan dengan mengembangkan metode spektrofotometri teknik *mean centering of ratio spectra* pada analisis simultan INH dan vitamin B6 pada sediaan tablet, kemudian dilakukan uji validitas metodenya berdasarkan parameter validasi yaitu linieritas, akurasi, presisi, selektivitas dan sensitivitas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi secara *mean centering of ratio spectra* pada penetapan kadar INH dan vitamin B6 berhasil diterapkan untuk analisis formulasi farmasi secara simultan, tanpa gangguan dari ekscipien serta hasil parameter validasi berada dalam kisaran yang dapat diterima.

¹ Departemen Kimia Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas
Sumatera Utara, Medan,
Sumatera Utara, Indonesia

Korespondensi:

Lisda Rimayani Nasution
lisda.rimayani@usu.ac.id

Kata kunci: isoniazid (INH), vitamin B6 (pyridoxin HCl), *mean centering of ratio spectra* (MCR).

Pendahuluan

Isoniazid (INH), rifampisin, etambutol dan pirazinamid adalah kelompok obat anti tuberkulosis primer dalam standar terapi tuberkulosis. Berdasarkan sifat kuman tuberkulosis, maka salah satu prinsip yang digunakan adalah penggunaan kombinasi obat (1). Salah satu bentuk kombinasi tersebut adalah kombinasi INH dan vitamin B₆; kombinasi INH, etambutol dan vitamin B₆ (1). Bentuk kombinasi ini bertujuan untuk memperoleh efektivitas pengobatan dan mencegah timbulnya resistensi. Kombinasi bahan aktif dapat menimbulkan masalah dalam analisis kuantitatif untuk kontrol kualitas sediaan karena sifat fisikokimia senyawa yang terkandung hampir sama, atau profil kurva serapan masing-masing komponen saling tumpang tindih pada daerah tertentu sehingga serapan yang diperoleh merupakan jumlah serapan dari masing-masing komponen tersebut.

Penetapan kadar zat berkhasiat dalam berbagai sediaan obat merupakan bagian yang penting di instansi yang melakukan penetapan kadar obat seperti Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) dan industri farmasi sehingga diperlukan metode analisis dengan alat dan biaya operasional yang relatif lebih murah, serta pelaksanaan yang lebih mudah, tetapi dapat memberikan hasil dengan akurasi dan presisi yang baik (2). Spektrofotometri merupakan metode yang sederhana, cepat dan relatif lebih murah bila dibandingkan dengan metode lainnya (3). Namun, analisis kuantitatif secara simultan untuk sediaan farmasi yang mengandung banyak zat aktif sulit dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri yang klasik, dikarenakan adanya spektrum yang saling tumpang tindih (4).

Berbagai penelitian penetapan obat anti tuberkulosis yang dikombinasikan telah banyak dilakukan. Penetapan kadar campuran vitamin B₆, INH dan rifampisin dengan menggunakan Kromatografi Cair Lapis Tipis Kinerja Tinggi (KCLTKT) (5). Metode ini memerlukan waktu yang cukup lama untuk proses preparasi sampel karena adanya tahap ekstraksi pelarut, pemanasan, dan *degassing*. Selain itu, metode ini juga memerlukan biaya yang cukup mahal karena menggunakan banyak pelarut (5).

Penelitian dalam penetapan kadar campuran INH, pyrazinamide dan rifampisin pada sediaan tablet secara spektrofotometri ultraviolet dengan metode kemometrik. Metode ini tidak memerlukan waktu preparasi sampel yang lama dan pelarut yang banyak tetapi memerlukan proses perhitungan matematika yang rumit pada tahap analisisnya (6). Penelitian pada penetapan kadar campuran isoniazid dan vitamin B₆ pada sediaan sirup secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Metode ini memerlukan proses preparasi sampel yang lama karena dilakukan tahap pemisahan dan pelarut yang banyak (7).

Metode spektrofotometri secara *mean centering of ratio spectra* (MCR) adalah salah satu metode spektrofotometri yang dapat digunakan untuk analisis campuran beberapa zat secara langsung tanpa harus melakukan pemisahan dan derivatisasi terlebih dahulu walaupun dengan panjang gelombang yang (3) (8). Bila dibandingkan dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), metode spektrofotometri secara *mean centering of ratio spectra* (MCR) relatif lebih sederhana, alat dan biaya operasionalnya lebih murah dan waktu analisisnya lebih cepat (2) (9).

Penelitian yang dilakukan menggunakan dan mengembangkan metode spektrofotometri secara *Mean Centering of Ratio Spectra* (MCR) untuk penetapan kadar secara simultan dari *binary mixtures*, *ternary mixtures* maupun *multicomponent mixtures* pada berbagai sediaan obat tanpa langkah pemisahan maupun derivatisasi dahulu (10) (11) (8). *Mean centering of ratio spectra* pada penetapan kadar lima campuran obat sekaligus menunjukkan hasil yang baik (12).

Berdasarkan uraian diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang aplikasi pengembangan metode spektrofotometri ultraviolet dengan teknik *mean centering of ratio spectra* (MCR) pada analisis secara simultan kadar INH dan vitamin B₆ tanpa adanya tahap pemisahan pada sediaan tablet. Metode ini selanjutnya divalidasi untuk membuktikan bahwa hasil yang diberikan memiliki kecermatan dan ketelitian yang memadai.

Bahan dan Metode

Bahan

INH (BPFI), Vitamin B6 (BPFI), metanol (E-Merck), akuabidestilata (PT. Ika Pharmindo), natrium hidroksida (E-Merck) 0,1 N, kalium dihidrogenfosfat (E-Merck) 0,1 M, kertas saring whatman no. 42, kertas perkamen, tablet Pehadoxin Forte® (Phapros), dan tablet TB Vit 6® (Landson).

Alat

Spektrofotometer UV-Vis 1800 (Shimadzu) serta seperangkat *Personal Computer (PC)* yang dilengkapi dengan *software UV-Probe 2.34*, Microsoft Excel dan SPSS 20, Matlab® versi R2016a, kuvet 1 cm, alat-alat gelas (Oberoi), lumpang dan alu, neraca analitik (Boeco), sonikator (Branson 1510), pH meter (Hanna).

Metode

Optimasi pelarut

Dilakukan optimasi dengan mengukur serapan yang dihasilkan oleh INH dan vitamin B6 dalam metanol, dan campuran metanol : dapar fosfat pH 4; pH 5; pH 6 pada perbandingan (90:10; 70:30; 50:50).

Pembuatan spektrum serapan INH

Dipipet masing-masing 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5 mL dari larutan induk baku INH (100µg/mL) kedalam labu ukur 10 mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan menggunakan pelarut sampai garis tanda untuk mendapatkan larutan INH konsentrasi 5; 7,5; 10; 12,5; 15 µg/mL secara berturut-turut. Dari larutan-larutan tersebut dibuat spektrum serapannya.

Pembuatan spektrum serapan Vitamin B6

Dipipet masing-masing 0,6; 0,9; 1,2; 1,5; 1,8 mL larutan induk baku vitamin B6 (100µg/mL) kedalam labu ukur 10 mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan menggunakan pelarut sampai garis tanda untuk mendapatkan larutan vitamin B6 konsentrasi 6; 9; 12; 15; 18µg/mL secara berturut-turut. Dari larutan-larutan tersebut dibuat spektrum serapannya.

Pembuatan spektrum serapan campuran INH dan vitamin B6

Dibuat larutan campuran INH dan vitamin B6 dengan cara dipipet 1,25 mL larutan induk baku INH (100µg/mL) dan 1,3 mL larutan induk baku vitamin B6 (100µg/mL) ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dicukupkan volumenya menggunakan pelarut sampai garis tanda untuk mendapatkan larutan yang mengandung campuran INH dan vitamin B6 dengan konsentrasi 10µg/mL dan 12µg/mL secara berurutan. Dari larutan tersebut dibuat spektrum serapannya.

Pembuatan spektrum serapan rasio INH

Spektrum serapan INH dibagi dengan spektrum serapan vitamin B6 konsentrasi 12µg/mL dengan bantuan *software UV Probe 2.34* dimana spektrum serapan INH yang telah disimpan dimanipulasi dengan tipe *data set* kemudian dipilih operasi pembagian (*division*) dengan tujuan untuk membagi spektrum INH dengan vitamin B6. Pembuatan spektrum serapan rasio vitamin B6 dilakukan sebanyak lima kali pengulangan.

Pembuatan spektrum serapan rasio vitamin B6

Spektrum serapan vitamin B6 dibagi dengan spektrum serapan INH konsentrasi 10µg/mL dengan bantuan *software UV Probe 2.34* dimana spektrum serapan vitamin B6 yang telah disimpan dimanipulasi dengan tipe *data set* kemudian dipilih operasi pembagian (*division*) dengan tujuan untuk membagi spektrum vitamin B6 dengan INH. Pembuatan spektrum serapan rasio vitamin B6 dilakukan sebanyak lima kali pengulangan.

Pembuatan spektrum serapan rasio campuran INH dan vitamin B6

Spektrum serapan campuran INH dan vitamin B6 dibagi masing-masing dengan spektrum serapan INH konsentrasi 10µg/mL untuk penetapan kadar vitamin B6 dan untuk penetapan kadar INH spektrum serapan campuran INH dan vitamin B6 dibagi dengan spektrum serapan vitamin B6 konsentrasi 12µg/mL pembagian spektrum dilakukan dengan bantuan *software UV Probe 2.34* dimana spektrum serapan campuran yang telah disimpan dimanipulasi dengan tipe *data set*.

Pembuatan Spektrum Serapan INH Metode Mean Centering of Ratio Spectra (MCR)

Spektrum serapan INH dibagi dengan spektrum serapan Vitamin B6 konsentrasi 12 µg/mL dengan bantuan *software UV Probe 2.34* untuk mendapatkan rasio spektra yang kemudian dimeancenteredkan dengan bantuan MatlabR 2016a.

Pembuatan Spektrum Serapan Vitamin B6 Metode Mean Centering of Ratio Spectra (MCR)

Spektrum serapan vitamin B6 dibagi dengan spektrum serapan INH konsentrasi 10 µg/mL dengan bantuan *software UV Probe 2.34* untuk mendapatkan rasio spektra yang kemudian dimeancenteredkan dengan bantuan MatlabR 2016a.

Pembuatan kurva kalibrasi metode Mean Centering of Ratio Spectra (MCR) INH

Nilai *mean centered* (MC) dari rasio spektra pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh, dihitung dan diplot dengan konsentrasi untuk mendapatkan persamaan garis regresinya.

Pembuatan kurva kalibrasi metode Mean Centering of Ratio Spectra (MCR) Vitamin B6

Nilai *mean centered* (MC) dari rasio spektra pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh, dihitung dan diplot dengan konsentrasi untuk mendapatkan persamaan garis regresinya.

Validasi metode

Linearitas, batas deteksi (Limit of Detection, LOD) dan batas deteksi (Limit of Quantification, LOQ)

Dipipet masing-masing (0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5) mL larutan induk baku INH (100 µg/mL) ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan menggunakan pelarut sampai garis tanda untuk mendapatkan larutan INH konsentrasi (5; 7,5; 10; 12,5; 15) µg/mL secara berturut-turut.

Dipipet masing-masing (0,6; 0,9; 1,2; 1,5; 1,8) mL larutan induk baku vitamin B6 (100 µg/mL) ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan menggunakan pelarut sampai garis tanda untuk mendapatkan

larutan vitamin B6 konsentrasi (6; 9; 12; 15; 18) µg/mL secara berturut-turut.

Larutan-larutan di atas dilihat serapannya pada λ analisis masing-masing zat yang telah ditentukan. Kemudian ditentukan spektrum serapan campuran INH dan vitamin B6 dengan bantuan *software UV Probe 2.34* dimana spektrum serapan campuran yang telah disimpan dimanipulasi dengan tipe *data set*. Selanjutnya data yang diperoleh dimeancenteredkan dengan bantuan MatlabR 2016a. Nilai *mean centered* (MC) dari rasio spektra pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh, dihitung dan diplot dengan konsentrasi untuk mendapatkan persamaan garis regresinya.

Uji perolehan kembali

Uji perolehan kembali dilakukan dengan pengukuran persentase perolehan kembali pada tiga daerah spesifik, yakni: 80%, 100% dan 120%. Dimana pada masing-masing daerah spesifik digunakan 70% sampel (INH dan vitamin B6 yang berasal dari tablet) yang dianalisis dan 30% berasal dari baku yang akan ditambahkan. Kemudian campuran sampel (tablet) dan baku dianalisis dengan prosedur yang sama seperti pada sampel. Dihitung nilai presentase perolehan kembali, presentase simpangan baku relatifnya atau koefisien variasi sebagai parameter akurasi dan presisi (13).

Penetapan kadar campuran INH dan vitamin B6 pada sediaan tablet

Disaring larutan dengan kertas saring whatman® no. 42, dibuang 10 mL filtrat pertama. Dipipet 0,4 mL filtrat ke dalam labu ukur 25 mL, ditambahkan dengan pelarut sampai garis tanda. Absorbansinya kemudian diukur sesuai dengan prosedur hasil optimasi dengan menggunakan *metode mean centering of ratio spectra* (MCR).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Spektrum Serapan dan Spektrum Campuran

Spektrum serapan INH maupun Vitamin B6 dengan berbagai konsentrasi stabil dalam pelarut methanol. Spektrum campuran INH dan Vitamin B6 ini akan menghasilkan spektrum yang berbeda dengan spektrum masing-masing dari INH dan Vitamin B6 (**Gambar 1**), hal ini dikarenakan spektrum campuran merupakan

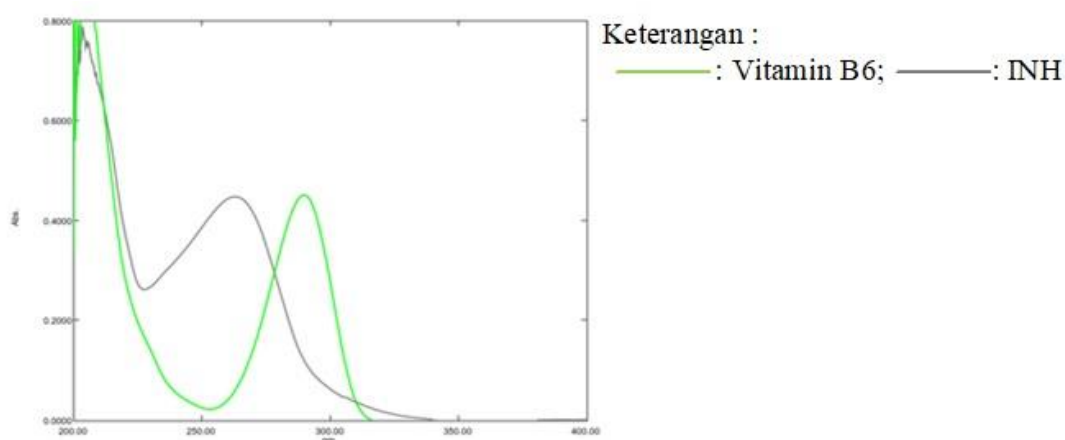
kombinasi dari spektrum zat yang menyusunnya. Spektrum serapan campuran baku INH dan Vitamin B6 dapat dilihat pada **Gambar 2**.

Metode Mean Centering of Ratio Spectra (MCR)

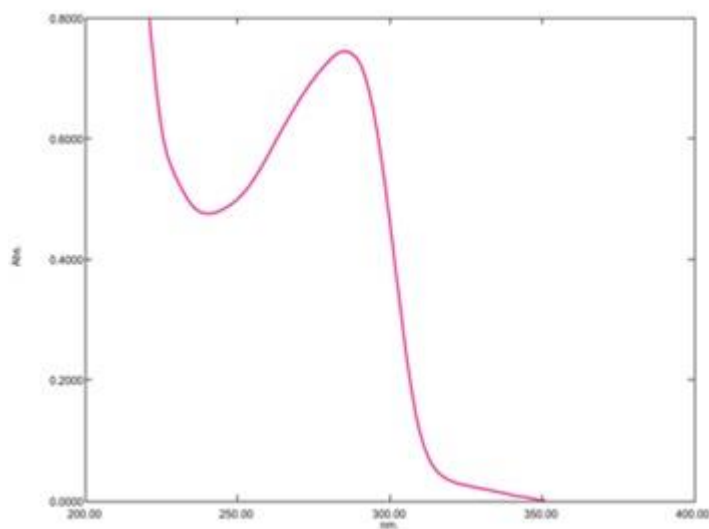
Metode spektrofotometri ultraviolet konvensional tidak dapat dilakukan untuk menetapkan INH maupun Vitamin B6 dalam campuran karena spektrum INH dan Vitamin B6 saling tumpang tindih, sehingga absorbansi pada λ spektrum campuran INH dan Vitamin B6 tidak menggambarkan besar konsentrasi masing-masing zat tersebut dalam campurannya. Berbeda dengan metode spektrofotometri ultraviolet konvensional, metode

spektrofotometri ultraviolet secara *mean centering of ratio spectra* (MCR) memungkinkan untuk menetapkan kadar suatu zat dalam campuran zat tersebut dengan zat lainnya, karena metode ini memungkinkan pemisahan spektrum campuran sehingga penetapan kadar zat tunggal dalam campurannya dapat dilakukan.

Metode MCR diawali dengan membuat spektrum rasio dan memilih konsentrasi pembagi. Penentuan konsentrasi pembagi diambil dari rentang konsentrasi yang memenuhi hukum Lambert-Beer (14). Konsentrasi pembagi yang digunakan dalam penelitian ini adalah INH (10 $\mu\text{g/ml}$) dan Vitamin B6 (12 $\mu\text{g/ml}$).



Gambar 1. Spektrum Tumpang Tindih INH dan Vitamin B6



Gambar 2. Spektrum Campuran Baku INH dan Vitamin B6

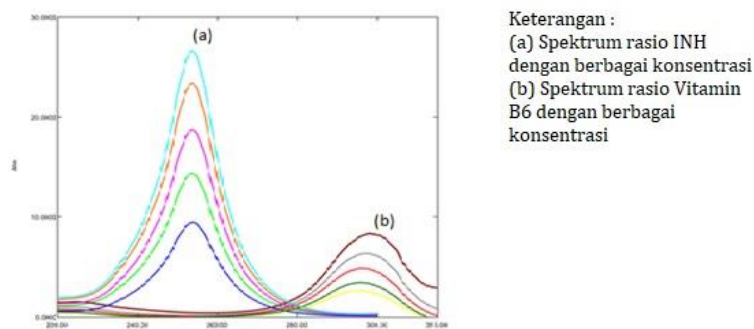
Dasar pemilihan konsentrasi pembagi adalah tidak terdapat perbedaan pada letak panjang gelombang maksimum dari zat-zat yang dibagi spektrumnya, yang berbeda hanya nilai absorpsi yang dihasilkan(15).

Pembuatan spektrum rasio dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan pengaruh spektrum yang digunakan sebagai pembagi dalam spektrum campurannya. Spektrum tumpang tindih rasio INH dan Vitamin B6 dapat dilihat pada **Gambar 3**. Dari **Gambar 3** ini dapat disimpulkan bahwa pengaruh spektrum dari kedua zat tidak saling mengganggu untuk analisis. Metode spektrum rasio, digabungkan dengan metode *mean centering* akan menghasilkan metode *mean centering of ratio spectra*, yang dapat menganalisis campuran yang terdiri dari dua zat yang memiliki spektrum yang saling tumpang tindih yaitu dengan cara menghilangkan pengaruh satu zat dengan membaginya dengan sebuah pembagi (*division*), kemudian diikuti dengan proses *mean-centered* yang akan memberikan nilai *mean-centered* untuk zat yang akan ditentukan kadarnya.

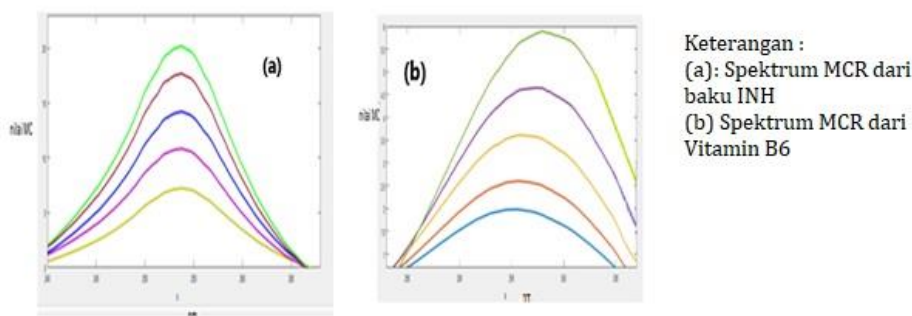
Dasar pemilihan konsentrasi pembagi adalah bahwa tidak terdapat perbedaan pada letak λ maksimum dari zat-zat yang dibagi spektrumnya, yang berbeda hanya tinggi puncak atau nilai absorpsi yang akan dihasilkan dan rentang konsentrasi yang memenuhi hukum Lambert-Beer (16). Kemudian setiap spektrum yang didapatkan dibagi dengan pembaginya, dimana pada penelitian ini untuk menentukan INH, yang digunakan sebagai pembagi adalah Vitamin B6, untuk menentukan Vitamin B6, yang digunakan sebagai pembagi adalah INH. Spektrum rasio didapatkan setelah spektrum dibagi dengan pembaginya masing-masing.

Hasil MCR INH dan Vitamin B6

Pembuatan spektrum MCR merupakan kelanjutan dari spektrum rasio INH dan Vitamin B6 dengan bantuan *software* MatlabR 2016a sehingga diperoleh nilai *mean centered* (MC) dan panjang gelombang maksimum dari masing-masing zat dalam campuran. Spektrum MCR baku INH dan Vitamin B6 dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Gambar 3. Tumpang tindih spektrum rasio INH dan Vitamin B6 dengan berbagai konsentrasi



Gambar 4. Spektrum MCR baku INH dan Vitamin B6

Penetapan kadar INH dan Vitamin B6, masing-masing dalam bentuk tunggal dapat ditetapkan dengan spektrofotometri ultraviolet dalam pelarut asam, INH pada panjang gelombang 266 nm dan Vitamin B6 pada panjang gelombang 290 nm (Moffat, dkk., 2004), sementara pada metode MCR diperoleh panjang gelombang maksimum untuk INH 253,80 nm, dan panjang gelombang maksimum untuk Vitamin B6 295,80 nm. Panjang gelombang yang diperoleh inilah yang digunakan sebagai panjang gelombang analisis. Berdasarkan hal di atas maka telah terjadi geseran batokromik (geseran merah/*red shift*) untuk Vitamin B6, dan telah terjadi geseran hipsokromik (geseran biru/*blue shift*) untuk INH. Geseran batokromik adalah geseran dari serapan ke panjang gelombang yang lebih panjang karena sisipan atau pengaruh pelarut (geseran merah/*red shift*). Geseran hipsokromik adalah geseran dari serapan ke panjang gelombang yang lebih pendek karena gugus ganti atau pengaruh pelarut (geseran biru/*blue shift*).

Validasi Metode

Berdasarkan validasi metode yang telah dilakukan secara MCR diperoleh nilai linieritas, akurasi, presisi, LOD dan LOQ untuk INH dan Vitamin B6 yang dapat dilihat pada **Tabel 1**. **Tabel 1** memperlihatkan bahwa MCR memenuhi syarat validasi untuk parameter linieritas, akurasi, presisi serta batas deteksi (LOD), batas kuantifikasi (LOQ).

Nilai linieritas yang digambarkan adalah nilai koefisien korelasi yang mendekati angka satu yang menunjukkan bahwa terdapat hubungan atau korelasi yang sangat baik antara konsentrasi dengan nilai absorbansi. Hal ini juga menandakan bahwa semakin meningkat konsentrasi maka nilai absorbansi pun akan meningkat.

Akurasi atau uji perolehan kembali merupakan parameter yang pengujiannya dilakukan dengan metode penambahan baku pada rentang tertentu terhadap sampel, kemudian keduanya diukur, baku yang ditambahkan dihitung kembali kembalinya. Nilai akurasi yang ditunjukkan pada **Tabel 1** merupakan rata-rata nilai kembalian dari tiga rentang spesifik dengan tiga kali pengulangan. Dalam hal ini tiga rentang spesifik yang

digunakan adalah 80%, 100% dan 120% dimana komposisinya terdiri dari 70% sampel dan 30% baku. Nilai akurasi yang didapatkan menunjukkan bahwa metode ini memenuhi syarat validasi metode (syarat nilai akurasi adalah 98%-102%) (17).

Presisi merupakan parameter yang menunjukkan keterdekatan hasil analisis yang dilakukan dalam beberapa kali pengulangan. Presisi menunjukkan bahwa metode tersebut memberikan hasil yang saling berdekatan walaupun diuji dalam beberapa replikasi. Parameter presisi dicerminkan dari nilai RSD yang dihasilkan, dari hasil yang ditunjukkan pada **Tabel 1**, metode ini memenuhi syarat validasi (RSD <3.9%) (18).

Sensitivitas metode analisis dinyatakan dengan nilai LOD dan LOQ. Semakin kecil nilai LOD dan LOQ maka semakin sensitif suatu metode analisis.

Nilai LOD dan LOQ yang terdapat pada **Tabel 1** menunjukkan bahwa metode ini memiliki nilai LOD dan LOQ yang kecil sehingga dapat dinyatakan bahwa metode ini memiliki sensitivitas yang baik (19).

Kadar INH dan Vitamin B6

Kadar INH dan Vitamin B6 dalam sediaan tablet berdasarkan hasil analisis secara MCR dapat dilihat pada **Tabel 2**. **Tabel 2** menunjukkan bahwa MCR dapat diaplikasikan untuk menetapkan kadar INH dan Vitamin B6 dalam sediaan tablet karena memenuhi persyaratan dimana kadar zat dari hasil analisis berada dalam rentang 90-110%.

Berdasarkan hasil yang diberikan oleh metode ini, baik dari segi nilai dalam uji validasi maupun hasil untuk analisis sampel yang terdapat di pasaran menunjukkan bahwa metode ini merupakan metode yang potensial digunakan dalam analisis rutin obat, khususnya obat yang mengandung kombinasi beberapa obat. Metode ini mudah dalam pengerjaannya khususnya untuk analisis rutin dan tidak memerlukan pengkondisian alat yang lama. Namun, metode ini memiliki kelemahan yaitu sulit untuk mendapatkan panjang gelombang analisis untuk masing-masing zat yang akan dianalisis.

Tabel 1. Nilai linieritas, akurasi, Presisi, LOD dan LOQ untuk INH dan Vitamin B6

No.	Parameter	INH	Vitamin B6
1	Linieritas	0,9988	0,9968
2	Akurasi (%)	101,21	100,43
3	Presisi (RSD) (%)	0,85	1,43
4	LOD ($\mu\text{g/mL}$)	0,8812	17,327
5	LOQ ($\mu\text{g/mL}$)	29,373	57,757

Keterangan :MCR : Metode Mean Centering of Ratio Spectra

Tabel 2. Kadar INH dan Vitamin B6 dalam sediaan tablet

No.	Sediaan Tablet	Komponen	Kadar (mg)	Klaim di Label (mg)	Syarat (mg)
1	Tablet Pehadoxin Forte®	INH	374,76 $\pm$ 0,50	400	360 - 440
		Vitamin B6	9,87 $\pm$ 0,89	10	9 - 11
2	Tablet TB Vit 6®	INH	380,64 $\pm$ 0,10	400	360 - 440
		Vitamin B6	25,65 $\pm$ 0,91	25	22,5 - 27,50

Kesimpulan

Metode spektrofotometri ultraviolet secara MCR dapat digunakan untuk menetapkan kadar INH dan vitamin B6 secara simultan dan memenuhi syarat validasi metode. Metode spektrofotometri ultraviolet secara MCR ini dapat digunakan untuk menetapkan secara simultan kadar INH dan vitamin B6 dalam sediaan tablet di pasaran dengan cara yang sederhana, akurat, dan tepat serta tidak memerlukan proses pemisahan sehingga biaya yang diperlukan relatif lebih rendah. Metode ini dapat diterapkan dalam *Quality Control* rutin di laboratorium untuk menganalisis campuran biner senyawa obat secara simultan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini, khususnya kepada seluruh staf Laboratorium Penelitian dan Departemen Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

Referensi

- Chellini PR, Mendes TO, Franco PHC, Porto BLS, Tippavajhala VK, César IC, et al.

Simultaneous determination of rifampicin, isoniazid, pyrazinamide and ethambutol in 4-FDC tablet by Raman spectroscopy associated to chemometric approach. *Vib Spectrosc* [Internet]. 2017;90:14–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vibspec.2017.03.001>

- Lotfy HM, Saleh SS. Recent development in ultraviolet spectrophotometry through the last decade (2006–2016): A review. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2016;8(10):40–56.
- Kamal AH, El-Malla SF, Hammad SF. A Review On UV Spectrophotometric Methods For Simultaneous Multicomponent Analysis. *Eur J Pharm Med Res*. 2016;3(2):348–60.
- Hajian R, Afshari N. The spectrophotometric multicomponent analysis of a ternary mixture of ibuprofen, caffeine and paracetamol by the combination of double divisor-ratio spectra derivative and H-point standard addition method. *E-Journal Chem*. 2012;9(3):1153–64.
- Mathew M, Puthusseri S. 2014. *Validated Hptlc Method For Simultaneous Estimation Of Tolperisone Hydrochloride And Paracetamol*

- In Tablet Dosage Form.*
6. Asadpour-Zeynali K, Saeb E. Simultaneous Spectrophotometric Determination of Rifampicin, Isoniazid and Pyrazinamide in a Single Step. *Iran J Pharm Res IJPR*. 2016;15(4):713–23.
 7. Budiarti A, Herdiyanti N. 2018. *Validasi Metode Penetapan Kadar Isoniazid Dan Vitamin B6 Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Serta Aplikasinya Dalam Sediaan Sirup Obat Tuberkulosis*.
 8. Nejsem RM, Issa MM, Shanab AA, Shaat NT. Double divisor mean centering of ratio spectra as a developed spectrophotometric method for the analysis of five-component mixture in drug analysis. *J Saudi Chem Soc* [Internet]. 2017;21:S283–92. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319610314000477>
 9. Tarigan VW. 2019. *Penetapan Kadar Hidrokortison Asetat dan Neomisin Sulfat dalam Sediaan Krim Secara Spektrofotometri Ultraviolet dengan Metode Mean Centering of Ratio Spectra*.
 10. Darwish HW, Hassan SA, Salem MY, El-Zeiny BA. Three different spectrophotometric methods manipulating ratio spectra for determination of binary mixture of Amlodipine and Atorvastatin. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2011 Dec;83(1):140–8.
 11. Hegazy MA, Abdelwahab NS, Fayed AS. A novel spectral resolution and simultaneous determination of multicomponent mixture of Vitamins B1, B6, B12, Benfotiamine and Diclofenac in tablets and capsules by derivative and MCR–ALS. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc* [Internet]. 2015;140:524–33. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386142514018964>
 12. Issa MM, Nejsem RM, Shanab AMA, Shaat NT. Resolution of five-component mixture using mean centering ratio and inverse least squares chemometrics. *Chem Cent J* [Internet]. 2013;7(1):152. Available from: <https://doi.org/10.1186/1752-153X-7-152>
 13. Sharma S, Goyal S, Chauhan K. A review on analytical method development and validation. *Int J Appl Pharm*. 2018;10(6):8–15.
 14. Hoang VD. Simultaneous Determination of Paracetamol and Caffeine in tablets by Mean Centering and Derivative Transforms of UV Ratio Spectra. *Asian J Res Chem*. 2014;7:561–4.
 15. Saraan SM, Sinaga M, Bachri M. Development method for determination of ternary mixture of paracetamol, ibuprofen and caffeine in tablet dosage form using zero-crossing derivative spectrophotometric. *Int J PharmTech Res*. 2015;7:349–53.
 16. Abdel-Hay MH, Gazy AA, Hassan EM, Belal TS. Derivative and Derivative Ratio Spectrophotometric Analysis of Antihypertensive Ternary Mixture of Amloride Hydrochloride, Hydrochlorothiazide and Timolol Maleate. *J Chinese Chem Soc* [Internet]. 2008;55(5):971–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jccs.200800144>
 17. Rao PV, Harini K, Chaithanya GV, Reddy NS, Sireesha A. Method Development and Validation of UV Spectro Photometric Method for Determination of Diazepam in its Pure and Pharmaceutical Dosage Form. *ARC J Pharm Sci*. 2018;4(2):18–23.
 18. Sakur AA, Affas S. Validated Spectrophotometric Method To Determine Vardenafil and Sildenafil in Pharmaceutical Forms Using Potassium Iodide and Potassium Iodate. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2017;9(10):65.
 19. Budiarti A, Afifah I. *Validasi Metode Analisis Klorfeniramin Maleat Dan Guaifenesin Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Serta Aplikasinya Dalam Sediaan Sirup*. *Ilmu Farm Farm Klin*. 2017;14(1):41–7.

Aktivitas Buah Pare (*Momordica charantia* L.) sebagai Herbal Anti Hiperglikemia pada Kondisi Diabetes Melitus: Literature Review

Ikhwan Yuda Kusuma¹, Yuli Maesaroh¹

Artikel Review

Abstract: Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disorder characterized by high blood glucose (hyperglycemia) and impaired carbohydrate, fat, and protein metabolism due to effects on insulin secretion and insulin sensitivity. Oral antidiabetic is one of the therapeutic options to control blood glucose although its use has the potential for side effects and is very detrimental, especially in long-term use. Complementary therapies made from herbs such as bitter melon (*Momordica charantia* L.) are potential aspects to be alternative therapies because of the potential for lower side effects and affordable costs. This study describes the activity of bitter melon (*Momordica charantia* L.) as an antihyperglycemic agent. This type of research is a literature review which is described descriptively. The literature search method uses international and national journals conducted by online and identified using electronic databases from PubMed, Science Direct and Google Scholar. The data collection process uses the PICO (Population, Intervention, Compare, Outcome) approach. The results of this study showed that bitter melon (*Momordica charantia* L.) contains antidiabetic compounds including charantin and polypeptide-p. Bitter gourd, both in extract and non-extract form and in single or in combination, has been shown to reduce blood glucose levels, increase insulin sensitivity and levels, normalize HbA1c levels, improve lipid profiles and reduce oxidative stress. The conclusion of this study is that bitter melon has the potential as an antihyperglycemic herb in diabetic conditions.

Keywords: diabetes mellitus, bitter melon, *Momordica charantia*, antidiabetes

Abstrak: Diabetes melitus (DM) merupakan gangguan metabolik yang ditandai dengan glukosa darah tinggi (hiperglikemia) dan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein akibat efek pada sekresi insulin dan sensitivitas insulin. Antidiabetes oral merupakan salah satu pilihan terapi untuk mengontrol glukosa darah meskipun penggunaannya berpotensi munculnya efek samping dan sangat merugikan terutama dalam penggunaan jangka panjang. Terapi komplementer berbahan herbal seperti buah pare (*Momordica charantia* L.) menjadi aspek potensial untuk menjadi terapi alternatif karena potensi efek samping yang lebih rendah dan biaya yang terjangkau. Studi ini menjelaskan mengetahui aktivitas buah pare (*Momordica charantia* L.) sebagai antihiperglikemia. Jenis penelitian ini adalah penelitian kajian literatur (*literature review*) yang dipaparkan secara deskriptif. Metode pencarian literatur jurnal internasional dan nasional dilakukan secara online dan diidentifikasi menggunakan database elektronik dari PubMed, Science Direct dan Google Scholar. Proses pengumpulan data menggunakan pendekatan PICO (*Population, Intervention, Compare, Outcome*). Hasil penelitian ini diketahui bahwa buah pare (*Momordica charantia* L.) mengandung senyawa antidiabetes diantaranya charantin dan polipeptida-p. Buah pare baik dalam bentuk ekstrak maupun non-extract dan dalam sediaan tunggal maupun kombinasi terbukti menurunkan kadar glukosa darah, meningkatkan sensitivitas dan kadar insulin, menormalkan kadar HbA1c, memperbaiki profil lipid serta mengurangi stres oksidatif. kesimpulan penelitian ini adalah buah pare sangat berpotensi sebagai herbal antihiperglikemia pada kondisi diabetes.

¹ Fakultas Kesehatan, Program Studi Farmasi, Universitas Harapan Bangsa, Jl. Raden Fatah No. 100, Kedunglongsir, Ledug, Kabupaten Banyumas, Jawa Tengah 53182, Indonesia

Korespondensi:

Ikhwan Yuda Kusuma
ikhwanyudakusuma@uhb.ac.id

Kata kunci: diabetes melitus, buah pare, *Momordica charantia*, antidiabetes

Pendahuluan

Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu gangguan metabolik. DM adalah gangguan yang ditandai dengan glukosa darah tinggi (hiperglikemia) dan gangguan pada metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein akibat defek pada sekresi insulin, sensitivitas insulin atau keduanya yang dapat menyebabkan berbagai komplikasi kronik seperti komplikasi mikrovaskular, makrovaskular kronik serta neuropati bisa terjadi(1).

Prevalensi menurut *International Diabetes Federation* (IDF) tahun 2019 memperkirakan jumlah penderita diabetes didunia pada rentang usia dewasa (20-79 tahun) adalah 453 juta jiwa (9,3%) dan diprediksi akan meningkat menjadi 587 juta jiwa (10,2%) pada tahun 2030 dan menjadi 700 juta jiwa pada tahun 2045. Indonesia menduduki peringkat ke-7 dari 10 besar negara dengan jumlah penderita diabetes terbanyak didunia. Berdasarkan hasil RISKESDAS (Riset Kesehatan Dasar) Republik Indonesia 2018, prevalensi DM berdasarkan pemeriksaan darah penduduk umur ≥ 15 tahun pada rentang tahun 2013-2018 di Indonesia mengalami peningkatan sebesar 1,6% dari 6,9% menjadi 8,5%(2)(3),(4).

Penyakit diabetes melitus sangat membutuhkan terapi. Penyakit diabetes melitus dapat diterapi menggunakan antidiabetes oral salah satunya adalah golongan biguanid contohnya yaitu metformin yang merupakan satu-satunya golongan biguanid yang masih tersedia saat ini di Indonesia[(1). Namun obat oral antidiabetes dapat berpotensi munculnya efek samping yang tidak diinginkan dan biasanya sangat merugikan terutama dalam penggunaan jangka panjang, sehingga potensial alternatif dapat direkomendasikan untuk mengontrol glukosa darah. Salah satu alternatif yang dapat diberikan adalah penggunaan terapi herbal.

Dewasa ini terapi herbal digunakan di dunia sebagai terapi alternatif. Hal ini disebabkan karena potensi efek samping yang lebih sedikit dan biaya yang terjangkau. Salah satu herbal yang dapat digunakan sebagai terapi alternatif diabetes adalah buah pare (*Momordica charantia* L.). Buah pare secara luas digunakan oleh masyarakat sebagai tanaman obat terutama

sebagai antidiabetes, antipiretik, antigout dan sebagainya(5).

Menurut Meles *et al.*, 2019 dan Agoes, 2010 buah pare mengandung charantin, polypeptide-P insulin dan lektin yang dapat menurunkan kadar glukosa darah[(6)(7). Selain itu buah pare juga berfungsi sebagai antioksidan dengan kandungan saponin, flavonoid, polifenol, dan vitamin C sebagai menangkal radikal bebas yang dapat mengganggu kelangsungan hidup sel Leydig akibat penyakit DM. Buah pare memiliki efek hipoglikemik dengan cara menurunkan kadar glukosa darah melalui proses penghambatan glukoneogenesis di hati, melindungi sel beta pankreas, meningkatkan sensitivitas insulin(8)(9)]

Adnyana *et al.*, 2016 melaporkan bahwa pemberian ekstrak buah pare dosis (59 mg/kg) pada hari ke-7 dapat menurunkan kadar glukosa darah ke level normal <200 mg/dl pada ikus diabetes yang diinduksi aloksan(10). Kadar glukosa yang semula 413.3 ± 41.61 mg/dl menurun menjadi 192.9 ± 12.83 mg/dl. Rata-rata kadar glukosa darah setelah setelah 21 hari pemberian ekstrak buah pare adalah $152,80 \pm 4,76$ mg/dl. Penelitian serupa dilakukan oleh Haryoto dan Afifah (2019), ekstrak etanol buah pare dapat menurunkan kadar glukosa darah setelah 14 hari(11). Penurunan kadar glukosa setelah pemberian ekstrak pada dosis 150 mg/kgBB, 300 mg/kgBB dan 600 mg/kgBB masing-masing ($102 \pm 13,23$ mg/dL), ($114,33 \pm 7,23$ mg/dL) dan ($147,33 \pm 9,61$ mg/dL). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan tentang aktivitas buah pare (*Momordica charantia* L.) sebagai herbal antihiperglikemia pada kondisi diabetes melitus.

Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *literature review* yang dipaparkan secara deskriptif berdasarkan *Preferred Reporting Item for Systematic Reviews and Meta-Analytic* (PRISMA).(12) 24 literatur diperoleh dari jurnal internasional dan nasional pada periode 10 tahun terakhir (2010-2020) yang dilakukan secara online dan diidentifikasi menggunakan database elektronik dari *PubMed*, *Science Direct* dan *Google Scholar* dengan menggunakan kata kunci "Bitter melon/bitter gourd activity + diabetes mellitus";

"*Momordica charantia* + antidiabetic"; "bitter melon + decreases blood glucose levels"; "bitter melon + hypoglycemia"; "Effect of bitter melon + blood glucose" dan "pare (*Momordica charantia*) + antidiabetes". Jumlah literatur yang disitasi dalam penelitian ini adalah sebanyak 24 jurnal.

Tinjauan literatur dilakukan berdasarkan karakteristik penelitian dengan kriteria inklusi, yaitu tentang pemberian buah pare (*Momordica charantia*) pada diabetes melitus. Jurnal ilmiah dari database online yang masuk dalam kriteria inklusi adalah *original research*. Sedangkan kriteria eksklusinya yaitu tanaman pare (*Momordica charantia*) untuk terapi penyakit lain (selain diabetes melitus. Proses pengumpulan data menggunakan metode ekstraksi data dengan pendekatan PICO (*Population, Intervention, Compare, Outcome*).

Hasil dan Diskusi

Buah pare (*Momordica charantia* L.) secara luas telah digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan beberapa penyakit salah satunya adalah sebagai terapi diabetes(5). Buah pare dipilih oleh masyarakat sebagai tanaman yang digunakan untuk pengobatan diabetes berdasarkan pengalaman dari nenek moyang atau secara empiris(13). Hal ini disebabkan karena buah pare mengandung senyawa saponin yang berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah(14).

Senyawa saponin dalam ekstrak buah pare dapat meningkatkan toleransi glukosa, mengurangi kadar glukosa darah puasa secara signifikan ($P < 0,01$), asam lemak non-esterifikasi, trigliserida, kolesterol total, meningkatkan kadar insulin ($P < 0,05$) dan sensitivitas insulin pada tikus diabetes tipe 2. Ditunjukkan bahwa setelah diberikan ekstrak saponin buah pare selama 4 minggu, aktivitas Superoxide Dismutase (SOD) dan Catalase (CAT) meningkat serta terjadi peningkatan ekspresi (p-Insulin Receptor Substrate 1) p-IRS-1 (Y612) dan (protein kinase) p-Akt (S473) secara signifikan di hati dan jaringan pankreas tikus yang diinduksi diabetes. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak saponin buah pare dapat menangkal radikal bebas untuk mencegah kerusakan oksidatif dengan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan mengurangi isi

peroksida lipid pada tikus model, sehingga memainkan peran sebagai antidiabetes(14).

Senyawa saponin yang terdapat dalam buah pare salah satunya adalah charantin. Charantin merupakan campuran dua senyawa saponin yang terdiri dari sitosteril glukosida (C₃₅H₆₀O₆) dan stigmasteryl glukosida (C₃₅H₅₈O₆)(15). Charantin diyakini sebagai agen potensial untuk meningkatkan sensitivitas insulin pada diabetes tipe 2. Selain itu, dilaporkan bahwa ekstrak kaya charantin dari buah pare dapat menyebabkan penurunan kadar glukosa darah puasa secara signifikan, intoleransi glukosa plasma, dan resistensi insulin dalam model tikus diabetes yang diinduksi tinggi lemak(8).

Mekanisme kerja senyawa charatin yaitu dengan cara meningkatkan sensitivitas insulin melalui peningkatan ekspresi Glucose Transporter-4 (GLUT-4) di otot rangka dan Insulin Receptor Substrat-1 (IRS-1) di hati tikus(8). Charantin mengaktifasi AMPK sehingga dapat meningkatkan pembentukan glikogen dan meningkatkan uptake glukosa pada otot dan sel hati(16). Selain itu, senyawa charantin juga dapat menstimulasi sel β pankreas untuk memproduksi lebih banyak insulin dan meningkatkan cadangan glikogen di hati(17). Melalui mekanisme ini, menunjukkan bahwa senyawa charantin dalam buah pare memiliki manfaat yang sangat baik sebagai agen antidiabetes.

Selain senyawa charantin, buah pare juga mengandung senyawa lain yang berguna sebagai agen antidiabetes yaitu momorsidin dan polypeptide-P insulin yang memiliki komponen yang menyerupai sulfonilurea(17). Polipeptida-p merupakan protein polipeptida yang mempunyai mekanisme menyerupai aksi insulin manusia dalam tubuh yang dapat merangsang sel beta pankreas untuk melepaskan insulin dengan demikian digunakan sebagai pengganti insulin nabati pada pasien dengan diabetes tipe-1(18).

Studi lebih lanjut dilakukan untuk melihat senyawa antidiabetes yang terkandung dalam pare dengan melakukan analisis doking. Dari hasil yang diperoleh didapatkan senyawa momordicilin sebagai senyawa paling aktif. Momordicilin merupakan inhibitor kuat dari Glikogen Sintase Kinase-3 (GSK-3). Momordicilin berhasil mengikat GSK-3 dan akibatnya dapat

mencegah fosforilasi glikogen sintase. Glikogen sintase berperan pada produksi glikogen yang selanjutnya akan mempertahankan kadar glukosa darah(19). Setelah diketahui bahwa beberapa kandungan senyawa dari buah pare memiliki khasiat sebagai antidiabetes maka banyak penelitian yang membuktikan aktivitasnya.

Uji aktivitas antidiabetes ditunjukkan bahwa pemberian oral dari ekstrak etanol *Momordica charantia* pada tikus dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan menekan glukoneogenesis melalui proses penghambatan enzim glukoneogenesis di hati. Enzim glukosa-6-fosfatase dan fruktosa-1,6-bisphosphatase pada tikus yang diberi streptozocin meningkat masing-masing 71,29% dan 52,58%. Kemudian setelah diberikan ekstrak etanol 95% buah pare aktivitas enzim menurun signifikan sebesar 40,54% dan 40,49%(20).

Mekanisme kerja efek penurunan kadar glukosa darah diduga disebabkan oleh senyawa dalam ekstrak yang memiliki sifat seperti insulin, dimana senyawa tersebut mampu memacu terjadinya proses glikogenesis, pengubahan kelebihan glukosa menjadi lemak serta menghambat glukoneogenesis(6,21). Kemudian terjadi penekanan enzim glukoneogenik di hati seperti fruktosa-1,6-bisphosphatase dan glukosa-6-fosfatase serta merangsang oksidasi glukosa oleh pentosa fosfat melalui jalur aktivasi glukosa-6-fosfat dehydrogenase. Dengan demikian buah pare dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi streptozotocin(20).

Studi yang lebih jauh lagi dilakukan dengan melihat efek pare pada sel beta pankreas. Berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi jaringan pankreas tikus menunjukkan pulau Langerhans yang terdiri dari sel α dengan sitoplasma berglanuler serta sel β dengan inti bulat dan sitoplasma tidak berglanuler. Pulau Langerhans tersusun sangat padat dan sel delta mudah ditemukan. Hal ini menunjukkan bahwa jaringan pankreas tikus dalam fungsi normal setelah diberikan fraksi n-heksana ekstrak buah pare(22).

Jaringan pankreas sangat berkaitan dengan kontrol glukosa dalam tubuh. Ekstrak buah pare dapat memperbaiki sel β pankreas sehingga dapat memproduksi insulin, meningkatkan jumlah

penyusun sel pulau Langerhans dan jumlah sel Leydig tikus hiperglikemia yang diinduksi aloksan. Dalam hal ini, ekstrak buah pare pada dosis 59 mg/KgBB/1ml/hari diketahui dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus. Terlihat rata-rata kadar glukosa darah setelah setelah 21 hari pemberian ekstrak buah pare adalah $152,80 \pm 4,76$ mg/dl yang menunjukkan dapat menurunkan glukosa darah tikus ke tingkat normal (<200 mg/dl)(6).

Hasil studi lebih lanjut, berdasarkan penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa ekstrak buah pare pada konsentrasi 100mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 400mg/kgBB efektif menurunkan kadar glukosa darah pada mencit (*Mus musculus*). Rata-rata selisih penurunan efek antidiabetik ekstrak etanol buah pare masing-masing 50 mg/dl, 75 mg/dl dan 122 mg/dl(23). Kemudian uji aktivitas antidiabetes oleh Yudha et al., (2018), melaporkan bahwa efek dari partisi air buah pare (*Momordica charantia* L.) dengan dosis 50 mg/kg BB efektif menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*)(17). Efek penurunan kadar glukosa terlihat jelas dari hari ke-11 dengan rata-rata $189,2 \pm 113,84$ mg/dl dibandingkan hari ke-4 dengan rata-rata $538,8 \pm 136,847$ mg/dl. Selanjutnya pada hari-18 terjadi penurunan kadar glukosa ke level normal rata-rata $134,8 \pm 98,799$ mg/dl.

Aktivitas penurunan kadar glukosa darah dari studi lain yaitu isolat aktif antihiperglikemia yang berasal dari ekstrak fraksi etanol buah pare. Fraksi etanol buah pare menunjukkan aktivitas yang tinggi dalam menurunkan kadar glukosa darah pada tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) pada hari ke-7(21). Selain itu, Parawansah et al., (2019) melaporkan selain fraksi etanol disebutkan bahwa pemberian fraksi n-heksan ekstrak buah pare 400 mg/kg juga dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus pada hari ke-7 sebesar 70,95%(22).

Uji aktivitas antidiabetes buah pare lebih lanjut diuji pada kelinci sebagai hewan uji. Dilaporkan bahwa ekstrak alkohol buah pare dosis 0,5 hingga 1,5 gram/kg BB menunjukkan efek hipoglikemik pada kelinci diabetes yang diinduksi aloksan. Efek hipoglikemik ini sebanding dengan metformin dalam dosis 62,5 mg/Kg. Setelah 5 minggu, terlihat tingkat DM ringan, sedang dan akut pada pemberian dosis 0,5

mg/Kg BB kadar glukosa darah menurun signifikan 184, 194 dan 199 mg/dl, pada dosis 1 gram/kg BB masing-masing 149, 151, dan 146 mg/dl dan pada dosis 1,5 gram/Kg BB masing-masing 120, 127 dan 131 mg/dl. Hal ini menunjukkan ekstrak buah pare memberikan efek penurunan kadar glukosa darah tergantung dosis. Ditunjukkan semakin tinggi dosis yang diberikan maka penurunan kadar glukosa darah semakin optimal(24).

Selain pengujian aktivitas buah pare secara tunggal, aktivitas kombinasi jus pare (*M. charantia* L.) dosis 17,4 g/KgBB dan jus tomat (*S. lycopersicum* L.) dosis 16,8 g/KgBB menunjukkan efek penurunan kadar glukosa darah yang lebih baik dibandingkan jus tunggalnya. Terlihat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok kombinasi dan lebih efektif menurunkan kadar glukosa darah dari menit ke-90 sampai menit ke-120 sehingga mencapai kadar glukosa darah tikus normal sekitar 94,50–102,50 mg/dl(13). Hal ini disebabkan adanya kandungan senyawa kimia salah satunya saponin yang bekerja dengan cara meningkatkan sekresi insulin di sel β pankreas, meningkatkan uptake glukosa dan menghambat penyerapan glukosa didalam usus halus(25).

Studi lebih lanjut adalah pengujian antihiperglikemia pada terapi kombinasi dengan obat sintesis. Terapi kombinasi menunjukkan efek lebih baik dibandingkan terapi tunggal. Efek kombinasi ekstrak buah pare (150 mg/kg BB) dengan metformin (7.5 mg/kg BB) secara signifikan menurunkan kadar glukosa darah dari 18.42 ± 0.95 menjadi 6.80 ± 0.39 mmol/l dibandingkan kelompok kontrol setelah pengobatan selama empat minggu. Kombinasi ini juga dapat memperbaiki profil lipid dengan terjadinya penurunan kolesterol total (34,25%), trigliserida (11,92%), kadar kolesterol LDL (57,73%) dan peningkatan kadar kolesterol HDL (55,48%). Selain itu, terapi kombinasi juga dapat mempertahankan glikogen hati 49,01% dibandingkan dengan kelompok kontrol diabetes(26).

Studi efek kombinasi dengan obat sintesis yang lainnya, dilaporkan bahwa efek kombinasi glibenklamid dengan ekstrak buah pare juga efektif menurunkan kadar glukosa darah hingga 62,54%, memulihkan kadar insulin sel-sel β

pankreas dan memperbaiki stres oksidatif. Lebih lanjut, ekstrak buah pare juga menormalkan tingkat Hemoglobin A1c (HbA1c) hingga $8,1 \pm 0,35\%$ dibandingkan kontrol. Kadar glukosa darah yang tinggi akan bereaksi dengan hemoglobin membentuk hemoglobin terglukasi (HbA1c). Akibatnya, tingkat total Hb berkurang pada penderita diabetes. Tingkat glikosilasi secara langsung berkorelasi dengan kadar glukosa darah. Dalam hal ini, pemberian kombinasi hampir menormalkan tingkat HbA1c(27).

Selain dalam bentuk ekstrak, buah pare juga banyak diuji aktivitasnya dalam bentuk non-extract diantaranya seperti jus, rebusan dan infus buah pare. Parmar et al., (2011) melaporkan bahwa jus buah pare bermanfaat dalam menurunkan kadar glukosa darah pada toleransi glukosa dan dapat memperbaiki profil lipid pada tikus diabetes tipe 2 yang diinduksi streptozocin(28). Pemberian jus buah pare 50% secara signifikan ($p < 0,05$) mengurangi kolesterol, VLDL dan kadar trigliserida pada tikus diabetes dan meningkatkan kadar kolesterol HDL. Studi menyebutkan bahwa *M. charantia* dalam memperbaiki profil lipid dan kadar glukosa darah yaitu dengan cara memodulasi ekspresi gen PPAR- γ dimana gen PPAR- γ merupakan bagian penting yang berguna mengontrol ekspresi gen yang terlibat dalam diferensiasi sel lemak dan sensitivitas insulin(29).

Selain uji praklinik pada tikus, dilaporkan bahwa uji klinis pemberian jus kering dari buah pare pada 18 pasien dengan status diabetes melitus tipe-2 terbukti memiliki efek hipoglikemik yang sangat signifikan ($p < 0,01$) setelah pemberian selama 4 minggu. Dari 18 pasien menunjukkan 12 pasien mengalami perbaikan kadar glukosa darah puasa dan kadar glukosa darah setelah 2 jam pemberian oral jus kering buah pare. Efek penurunan ini diduga karena buah pare mampu meningkatkan penyerapan glukosa sel untuk mempromosikan pelepasan insulin dan mempotensiasi efek insulin(30).

Uji aktivitas non-extract lebih lanjut, dilaporkan bahwa tikus diabetes yang diberikan jus segar dan rebusan pare (0,36 g pare/0,9 ml) mengalami penurunan kadar glukosa darah secara signifikan ($p < 0,05$) yaitu 173,93 mg/dl

menjadi 118,18 mg/dl dan 174,68 mg/dl menjadi 144,01 mg/dl dibandingkan kontrol setelah 8 hari(31). Selain itu, efek infusa pekat buah pare dosis 0,3 ml/200 gBB juga mempengaruhi penurunan kadar glukosa darah hingga 87,21% mencapai level normal setelah 14 hari. Buah pare mampu meningkatkan aktivitas Superoxide Dismutase (SOD) ginjal tikus diabetes sebesar 144,76%. Aktivitas SOD akan menyebabkan terjadinya penurunan stres oksidatif dalam menangkal radikal bebas yang dipicu oleh hiperglikemik(32).

Studi lebih lanjut, uji aktivitas antidiabetes dari dua metode pemrosesan (segar dan freeze-drying) pada buah pare (*Momordica charantia* L.) varietas India dan Cina juga menunjukkan efek hipoglikemik. *M. charantia* varietas India segar memiliki efek penghambatan α -amilase secara signifikan lebih kuat dari pada *M. charantia* freeze-drying, tetapi tidak ada perbedaan signifikan yang terdeteksi antara kedua varietas. Sedangkan efek penghambat α -glukosidase, *M. charantia* varietas India menunjukkan efek yang jauh lebih kuat daripada *M. charantia* varietas Cina ($p < 0,05$)(33). Berdasarkan dari beberapa penelitian inilah menunjukkan bahwa buah pare sangat berpotensi sebagai herbal yang memiliki aktivitas antihiperglikemia sehingga dapat digunakan sebagai terapi alternatif pada penderita diabetes melitus.

Kesimpulan

Buah pare (*Momordica charantia* L.) mengandung senyawa yang dapat digunakan sebagai antidiabetes diantaranya adalah charantin dan polipeptida-p. Buah pare terbukti memiliki aktivitas antidiabetik baik dalam bentuk extract maupun non-extract dan baik dalam pemberian tunggal maupun kombinasi. Efek antihiperglikemia dari buah pare ini antara lain: menurunkan kadar glukosa darah, meningkatkan sensitivitas dan kadar insulin, menormalkan kadar HbA1c, memperbaiki profil lipid serta mengurangi stres oksidatif. Hal ini menunjukkan bahwa buah pare sangat berpotensi sebagai herbal antihiperglikemia pada kondisi diabetes.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Universitas Harapan Bangsa.

Referensi

1. Dipiro, J.T., L. Robert., Talbert., G.C. Yee., G.R. Matzke. dan BGW. Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach (10th ed.). New York USA: The McGraw-Hill companies; 2016.
2. Federation ID. IDF diabetes atlas 8th edition. Int Diabetes Fed. 2017;905–11.
3. Kemenkes. Hasil Utama Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS). Jakarta: Balitbang Kemenkes RI. Jakarta.; 2018.
4. Dipahayu D, Arifiyana D. KOSMETIKA BAHAN ALAM Buku Ajar Jilid 1. Hariyati NR, editor. Gresik; 2019.
5. Nkambo W, Anyama NG, Onegi B. In vivo hypoglycemic effect of methanolic fruit extract of *Momordica charantia* L. Afr Health Sci. 2013;13(4):933–9.
6. Ketut DM, Adnyana DPA, Rinaldhi CP, Octaviani RR, Cempaka DKS, others. The antidiabetic effect of bitter melon (*Momordica charantia* L.) extracts towards glucose concentration, langerhans islets, and leydig cells of hyperglycemic mice (*Rattus norvegicus*). EurAsian J Biosci. 2019;13(2).
7. Agoes A. Tanaman obat indonesia. 2010;
8. Wang HY, Kan WC, Cheng TJ, Yu SH, Chang LH, Chuu JJ. Differential anti-diabetic effects and mechanism of action of charantin-rich extract of Taiwanese *Momordica charantia* between type 1 and type 2 diabetic mice. Food Chem Toxicol. 2014;69:347–56.
9. Totoro GJ, Derrickson Bryan. Principles Of Anatomy And Physiology. Laboratorium Penelitian dan Pengembangan FARMACA TROPIS Fakultas Farmasi Universitas Mualawarman, Samarinda, Kalimantan Timur. 2016. 5–24 p.
10. Adnyana IDPA, Meles DK, Zakaria S, Suwasanti N, others. Efek anti diabetes buah pare (*Momordica charantia* Linn.) terhadap kadar glukosa darah, sel penyusun Pulau

- Langerhans dan Sel Leydig pada tikus putih hiperglikemia. *Acta Vet Indones*. 2016;4(2):43–50.
11. Haryoto H, Afifah UN. AKTIVITAS ANTI DIABETES EKSTRAK ETANOL BUAH PARE TERHADAP TIKUS JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN. 9th Univ Res Colloquium Urecol. 2019;9(1).
 12. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JP, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *J Clin Epidemiol*. 2009;62(10):e1–34.
 13. Wulandari W. Uji Efektivitas Antihiperglikemia Kombinasi Jus Pare (*Momordica charantia* L) dan Jus Tomat (*Solanum lycopersicum* L) pada Tikus Wistar Jantan dengan Metode Toleransi Glukosa. *Pharm Sci Res*. 2016;3(3):5.
 14. Jiang S, Xu L, Xu Y, Guo Y, Wei L, Li X, et al. Antidiabetic effect of *Momordica charantia* saponins in rats induced by high-fat diet combined with STZ. *Electron J Biotechnol*. 2020;43:41–7.
 15. Banerjee J, Chanda R, Samadder A. Anti-diabetic activity of *Momordica charantia* or bitter melon: a review. *Acta Sci Pharm Sci*. 2019;3:24–30.
 16. Bagchi D, Sreejayan N. Nutritional and therapeutic interventions for diabetes and metabolic syndrome. Academic Press; 2018.
 17. Yudha DWYI, Suartha N, Sudimantini LM. Efektivitas Partisi Air Buah Pare Terhadap Penurunan Gula Darah Diabetik Eksperimental Tikus Putih Jantan. *Bul Vet Udayana*. 2018;10–7.
 18. Kindangen OC, Yamlean PVY, Wewengkang DS. FORMULASI GEL ANTIJERAWAT EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) DAN UJI AKTIVITASNYA TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* SECARA *in vitro*. Vol. 7, PHARMACONJurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT. 2018.
 19. Hazarika R, Parida P, Neog B, Yadav RNS. Binding Energy calculation of GSK-3 protein of Human against some anti-diabetic compounds of *Momordica charantia* linn (Bitter melon). *Bioinformation*. 2012;8(6):251.
 20. Chowdhury MAZ, Hossain MI, Hossain MS, Ahmed S, Afrin T, Karim N. Antidiabetic effects of *Momordica charantia* (karela) in male long Evans rat. *J Adv Lab Res Biol*. 2012;3(3):175–80.
 21. Kartini KS, Swantara IMD, Suartha IN. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica Charantia*) Yang Dapat Menurunkan Kadar Glukosa Darah. *Cakra Kim Indones E-J Appl Chem*. 2015;3(2).
 22. Parawansah P, Rahmawati R, Sudayasa IP, Kholidha AN, Eso A, Nuralifah N. Pengaruh Fraksi Ekstrak Buah Pare (*Momordica Charantia* L.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus yang Diinduksi Streptozotocin. *Maj Farmasetika*. 2019;4:84–92.
 23. Parawansah N, Kholidha AN. Uji Anti diabetik Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia* L.) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah pada Mencit yang Diinduksi Streptozotocin. *J Medula*. 2017;5(1):410–5.
 24. Vangoori Y, Mishra SS, others. Anti diabetic effect of *Momordica charantia* (Bitter melone) on Alloxan induced diabetic rabbits. *Int J Med Res Health Sci*. 2013;2(2):137–42.
 25. Ramadani FH, Intannia D, Ni'mah M. Profil penurunan kadar glukosa darah ekstrak air rambut jagung (*Zea Mays* L.) tua dan muda pada mencit jantan galur Balb-C. *J Pharmascience*. 2016;3(1):37–44.
 26. Chandradevi WA, Avesina M, Anggriyawanti DP, Purnama ER. Pemanfaatan Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Pemulihan

- Struktur Pankreas Mencit Diabetik. *Biotropic J Trop Biol.* 2018;
27. Abdel-Rahman RF, Soliman GA, Saeedan AS, Ogaly HA, Abd-Elsalam RM, Alqasoumi SI, et al. Molecular and biochemical monitoring of the possible herb-drug interaction between *Momordica charantia* extract and glibenclamide in diabetic rats. *Saudi Pharm J.* 2019;27(6):803–16.
 28. Parmar K, Patel S, Patel J, Patel B, Patel MB. Effects of bittergourd (*Momordica charantia*) fruit juice on glucose tolerance and lipid profile in type-II diabetic rats. *Int J Drug Dev Res.* 2011;3(2):139–46.
 29. Gadang V, Gilbert W, Hettiararchchy N, Horax R, Katwa L, Devareddy L. Dietary bitter melon seed increases peroxisome proliferator-activated receptor- γ gene expression in adipose tissue, down-regulates the nuclear factor- κ B expression, and alleviates the symptoms associated with metabolic syndrome. *J Med Food.* 2011;14(1–2):86–93.
 30. Salam MA, El-Gengaihi SE, Zikry EN, others. Preliminary clinical trials of karela, *Momordica charantia*, on non-insulin-dependent diabetes mellitus patients. *Egypt Pharm J.* 2015;14(1):69.
 31. Surawan FED, Efendi Z. THE EFFECT OF BITTER MELON (*Momordica charantia* L.) JUICE AND BOILED EXTRACT ON DIABETIC RATS. *J Agroindustri.* 2012;2(1):28–33.
 32. Hasanah NU, Hasanah H, Barroroh H. Terapi Infusa Pekat Buah Pare (*Momordica charantia* L.) terhadap Kadar Glukosa Darah dan SOD pada Ginjal Tikus DM Tipe 1. *Alchemy.* 2018;6(2):43–9.
 33. Wang L, Clardy A, Hui D, Gao A, Wu Y. Antioxidant and antidiabetic properties of Chinese and Indian bitter melons (*Momordica charantia* L.). *Food Biosci.* 2019;29:73–80.

Persepsi Masyarakat terhadap Pemberian Informasi Obat Swamedikasi Masa Pandemi Covid-19 di Kecamatan Tuah Madani Kota Pekanbaru, Indonesia

Septi Muharni^{1*}, Eci Marlina¹, Rahayu Utami¹, Fina Aryani¹, Mustika Furi¹

Artikel Penelitian

Abstract: Self-medication is an effort that is mostly made by the community in using drugs purchased without a doctor's prescription to overcome complaints. A study shows an increase in the number of self-medication seeking worldwide since the COVID-19 pandemic was announced and this would be indicative of increasing interest in self-medication worldwide. The provision of drug information has an important role in improving the quality of life of patients and providing quality services for patients. The purpose of this study was to determine the public perception of the provision of information on self-medication during the COVID-19 pandemic in Tuah Madani District, Pekanbaru city. This research is a quantitative descriptive observational research on 100 community samples who meet the inclusion criteria by taking purposive sampling. The assessment of public perception includes 5 (five) service dimensions, namely reliability, responsiveness, empathy, assurance and tangibles. The results of the study showed that public perceptions were 75.20% reliability, 74.0% responsiveness, 83.33% empathy, 80.12% assurance, and tangible facilities 82,9% with the average result of all aspects obtained as much as 79.11% with good category. These results can be concluded that the people of the Tuah Madani District of Pekanbaru City have a good perception of the services they receive during the COVID-19 pandemic.

Keywords: public perception, self-medication, services, covid-19, questionnaire.

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi
Riau, Jl. Kamboja, Simpang
Baru-Panam-Pekanbaru,
28293

Korespondensi:

Septi Muharni
septimuharni@stifar-riau.ac.id

Abstrak: Swamedikasi adalah upaya yang banyak dilakukan oleh masyarakat dalam menggunakan obat yang dibeli tanpa resep dokter untuk mengatasi keluhan. Sebuah studi menunjukkan peningkatan jumlah pencarian pengobatan sendiri di seluruh dunia sejak pandemi COVID-19 diumumkan dan ini akan menjadi indikasi meningkatnya minat dalam pengobatan mandiri di seluruh dunia. Pemberian informasi obat memiliki peranan penting dalam rangka memperbaiki kualitas hidup pasien dan menyediakan pelayanan bermutu bagi pasien. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui persepsi masyarakat terhadap pemberian informasi obat swamedikasi masa pandemi COVID-19 di Kecamatan Tuah Madani kota Pekanbaru. Penelitian ini merupakan penelitian observasional yang bersifat deskriptif kuantitatif terhadap 100 orang sampel masyarakat yang memenuhi kriteria inklusi dengan pengambilan sampel secara *purposive sampling*. Penilaian terhadap persepsi masyarakat mencakup 5 (lima) dimensi pelayanan yaitu *reliability*, *responsiveness*, *emphaty*, *assurance* dan *tangible*. Hasil penelitian didapatkan persepsi masyarakat yakni pada kehandalan (*reliability*) 75,20%, ketanggapan (*responsiveness*) 74,0%, perhatian (*empaty*) 83,33%, jaminan (*assurance*) 80,12%, dan fasilitas berwujud (*tangible*) 82,9% dengan hasil rata-rata keseluruhan aspek yang didapat sebanyak 79,11% dengan kategori baik. Hasil ini dapat disimpulkan bahwa masyarakat Kecamatan Tuah Madani kota Pekanbaru memiliki persepsi baik terhadap pelayanan yang didapatkan selama masa pandemi COVID-19.

Kata kunci: persepsi publik, swamedikasi, pelayanan, covid-19, kuesioner.

Pendahuluan

Swamedikasi adalah upaya yang dilakukan oleh masyarakat dengan menggunakan obat yang dibeli tanpa resep dokter untuk mengatasi keluhan ringan (BPOM, 2016). Masyarakat Indonesia melakukan swamedikasi dikarenakan penyakit yang dianggap ringan (46%), harga obat yang lebih murah (16%) dan obat yang mudah diperoleh (9%) sehingga menjadi *alternative* yang banyak dipilih oleh masyarakat untuk meredakan atau menyembuhkan suatu penyakit yang dideritanya (Kartajaya *et al*, 2011).

Prevalensi swamedikasi di dunia cukup tinggi, dilihat dari beberapa penelitian seperti di Malaysia (81,7%), di Arab Saudi (84,1%) dan di Vietnam (83,3%) (Hassali *et al*, 2011; Al-Ghamdi *et al*, 2020; Ha *et al*, 2019). Praktek swamedikasi di Indonesia tahun 2020 sebanyak 72,19% dan di Provinsi Riau mencapai angka 70,39% (BPS, 2020). Pada masa pandemi prevalensi swamedikasi di dunia meningkat yaitu dari 36,2% menjadi 60,4% (Oncongha *et al*, 2020). Pelaksanaan swamedikasi banyak terjadi kesalahan-kesalahan pengobatan (*medication error*). Kesalahan pengobatan disebabkan karena keterbatasan pengetahuan masyarakat terhadap obat, penggunaan obat dan informasi obat. Masyarakat pada umumnya tidak begitu mengetahui informasi yang lengkap tentang obat yang akan mereka konsumsi. Dalam melakukan swamedikasi, masyarakat berhak memperoleh informasi yang tepat, benar, lengkap, objektif dan tidak menyesatkan agar masyarakat mampu melakukan pengobatan sendiri secara aman dan efektif. Oleh karena itu, apoteker mempunyai peranan penting didalam swamedikasi (Zeenot, 2013). Peran tenaga kefarmasian sangat menunjang dalam keberhasilan pemberian informasi obat, apabila tidak tersampainya informasi secara baik merupakan suatu tanggung jawab tenaga kefarmasian dalam menyerahkan obat kepada pasien (Oscar & Jauhar, 2016)

Semakin pesatnya perkembangan pelayanan apotek dan semakin tingginya tuntutan masyarakat akan layanan, apotek harus mampu memenuhi keinginan dan selera masyarakat yang terus berubah dan meningkat (Depkes, 2006). Akibatnya, dibutuhkan eksistensi tenaga kefarmasian sebagai sumber daya manusia yang

menciptakan interaksi dengan masyarakat sehingga dapat mengetahui kualitas pelayanan kefarmasian yang telah diterima oleh masyarakat (Permenkes, 2016). Kualitas pelayanan dapat dijadikan suatu penilaian yang dilakukan dengan cara mengetahui persepsi masyarakat terhadap pelayanan kefarmasian. Persepsi merupakan proses akhir dari pengamatan yang diawali oleh proses penginderaan (Walgitto, 2013)

Pada masa pandemi COVID-19, adanya terbatas interaksi antara *costumer* dengan tenaga kefarmasian dalam pelayanan. Apotek disarankan untuk mengeluarkan obat-obatan melalui jendela kecil untuk meminimalkan kontak dan memastikan kesinambungan pelayanan, memasang seperti plastik pelindung transparan di meja transaksi, kemudian diberikan tanda pada lantai untuk menunjukkan jarak 1 atau 2 meter yang harus dijaga antara *costumer* dan staf (IAI, 2020). Kondisi ini juga menentukan perubahan pelayanan pemberian informasi dengan jaminan keamanan bagi pasien saat pemberian informasi obat pada swamedikasi.

Kecamatan Tuah Madani terdiri dari 5 kelurahan dengan jumlah penduduk sebanyak 202.914 jiwa (BPS, 2020). Banyaknya jumlah penduduk di Kecamatan Tuah Madani mempunyai pengaruh terhadap persentase sakit dan saat pandemi ini menyebabkan masyarakat cenderung memilih melakukan swamedikasi untuk mengatasi masalah kesehatannya.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan rancangan penelitian deskriptif kuantitatif. Populasi penelitian ini yaitu seluruh masyarakat Kecamatan Tuah Madani. Sampel penelitian yaitu 100 orang masyarakat Kecamatan Tuah Madani yang memenuhi kriteria inklusi. Kriteria inklusi adalah responden yang mendapatkan pelayanan swamedikasi minimal 3 bulan terakhir, responden yang bersedia menjadi objek penelitian, responden yang dapat membaca dan menulis dan responden yang dapat menggunakan *gadget* dengan baik. Kriteria eksklusi dalam penelitian ini adalah responden yang merupakan tenaga kesehatan.

Pengambilan sampel menggunakan metode *non probability sampling* yaitu secara *purposive sampling*. Jumlah sampel dalam penelitian ini di

hitung berdasarkan rumus Lameshow (Notoatmodjo, 2012):

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

Keterangan:

n: Jumlah sampel

$z_{1-\frac{\alpha}{2}}$: Tingkat Kepercayaan 95% = 1,96%

P: Proporsi suatu kasus terhadap populasi, bila tidak diketahui 50% = 0,5

d: Tingkat penyimpangan terhadap populasi yang diinginkan 10% = 0,1

Instrument yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kuesioner yang terdiri 4 aspek. Kuesioner dibuat dengan beberapa indikator pertanyaan yaitu Kehandalan (*reability*), Ketanggapan (*responsiviness*), Perhatian (*empaty*), Jaminan (*assurance*), Fasilitas Berwujud (*tangible*). Penyusunan kuesioner didalam penelitian ini menggunakan kuesioner yang di desain sendiri oleh peneliti berdasarkan kebutuhan yang mengacu Menkes RI No.73 tahun 2016 tentang standar pelayanan kefarmasian di Apotek dan IAI (2020) tentang panduan praktis untuk Apoteker. Hasil yang diperoleh pada kuesioner, dari 30 pernyataan dinyatakan valid dan nilai reliabilitasnya 0,973 (reliabel). Kemudian data di analisis karakteristik responden berdasarkan data sosiodemografi (jenis kelamin, usia, pendidikan terakhir, status pekerjaan dan jenis pekerjaan), analisa persepsi responden secara *scoring* yaitu untuk jawaban sangat baik mendapat skor 4, jawaban baik mendapatkan skor 3, jawaban tidak baik mendapatkan skor 2 dan jawaban sangat tidak baik mendapatkan skor 1. Berdasarkan rumus tersebut dapat disesuaikan dengan *range* skala

gambaran persepsi responden menurut Parasuraman (2011) (**Tabel. 1**)

Hasil dan Diskusi

Analisis karakteristik responden berdasarkan data sosiodemografi

Analisis karakteristik responden berdasarkan Jenis Kelamin

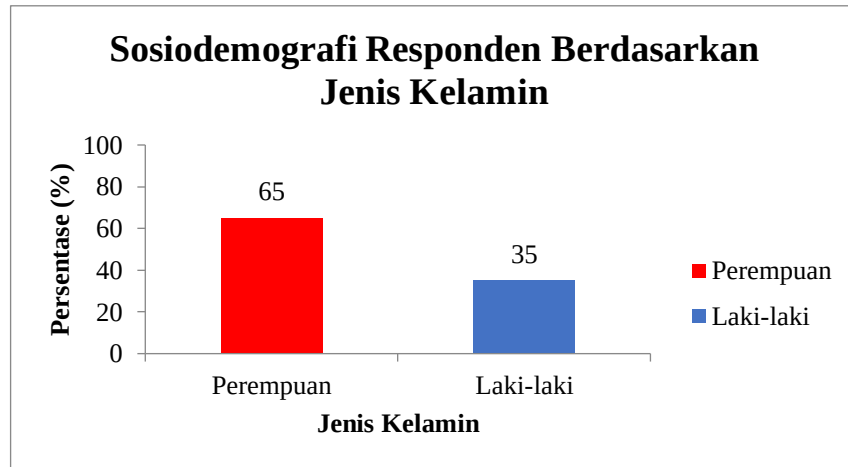
Berdasarkan data hasil penelitian, menunjukkan responden yang berjenis kelamin perempuan (65%) lebih banyak melakukan swamedikasi dibandingkan dengan laki-laki (35%) (**Gambar. 1**). Banyaknya responden perempuan kemungkinan karena perempuan lebih peduli terhadap kesehatan yang mencakup obat-obatan, selain itu sumber informasi yang didapat bahwa perempuan biasanya cenderung peduli pada kesehatannya dibandingkan laki-laki.

Menurut Ama *et al* (2020) bahwa perempuan akan segera mencari pengobatan ketika sakit dibandingkan laki-laki. Wahyuni (2012) juga menyampaikan perempuan juga lebih rentan terhadap berbagai macam penyakit dan lebih banyak yang berkonsultasi dengan petugas kesehatan dibandingkan dengan laki-laki.

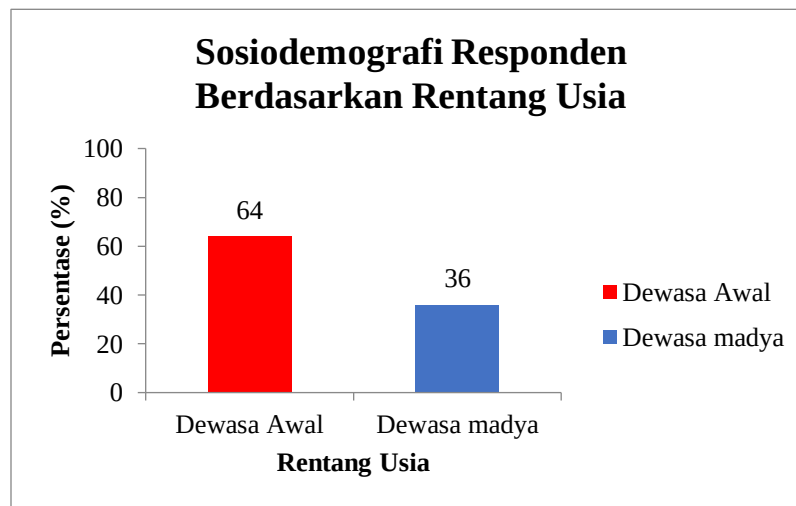
Hasil Penelitian lainnya juga menunjukkan bahwa sebagian besar yang melakukan swamedikasi adalah perempuan sebanyak 54,84% (Hamid *et al*, 2014). Hasil penelitian lain yang dilakukan di Universitas Taibah Madinah Arab Saudi, menunjukkan jenis kelamin perempuan memiliki tingkat swamedikasi yang lebih tinggi dengan persentase 65,5% dibandingkan berjenis kelamin laki-laki dengan persentase 63,5% (Aljaouni *et al*, 2015).

Tabel 1. *Range* Skala Gambaran Persepsi Responden

No	Gambaran Persepsi	Nilai Skala Peringkat
1	Sangat baik	81-100%
2	Baik	61-80%
3	Tidak baik	41-60%
4	Sangat tidak baik	< 40%



Gambar 1. Diagram Data Sosiodemografi Responden Jenis Kelamin



Gambar 2. Diagram Data Sosiodemografi Responden Rentang Usia

Analisis karakteristik responden berdasarkan Usia

Hasil dari data rentang usia diperoleh usia muda (18-40 tahun) dengan jumlah dan persentase 64 responden (64%), usia madya (41-60 tahun) 36 responden (36%) (**Tabel. 1**). Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa usia responden yang paling banyak melakukan swamedikasi di Kecamatan Tuah Madani Kota Pekanbaru dengan rentang usia muda (18-40 tahun). Hal ini terjadi karena rentang usia ini merupakan usia produktif yang dapat menerima informasi yang disampaikan oleh apoteker dengan baik.

Tingginya usia dewasa muda dalam penelitian ini juga kemungkinan karena jumlah penduduk di Kecamatan Tuah Madani, dimana 51,6% nya

adalah penduduk dengan rentang usia 15-44 tahun, sedangkan penduduk dengan rentang usia 41-60 tahun adalah sebanyak 27,6% (BPS, 2020). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sketcher-Baker (2017), menunjukkan bahwa responden berusia 18-40 dianggap mampu membuat keputusan tentang kesehatan mereka sendiri dan bertanggung jawab atas keputusan tersebut. Salah satunya adalah keputusan untuk melakukan pengobatan sendiri.

Hasil penelitian ini sejalan dengan yang dilakukan Hermawati (2012), menunjukkan hasil penelitian bahwa golongan umur 29-39 tahun merupakan kategori umur yang paling banyak melakukan swamedikasi (pengobatan sendiri). Rentang usia tersebut termasuk ke dalam

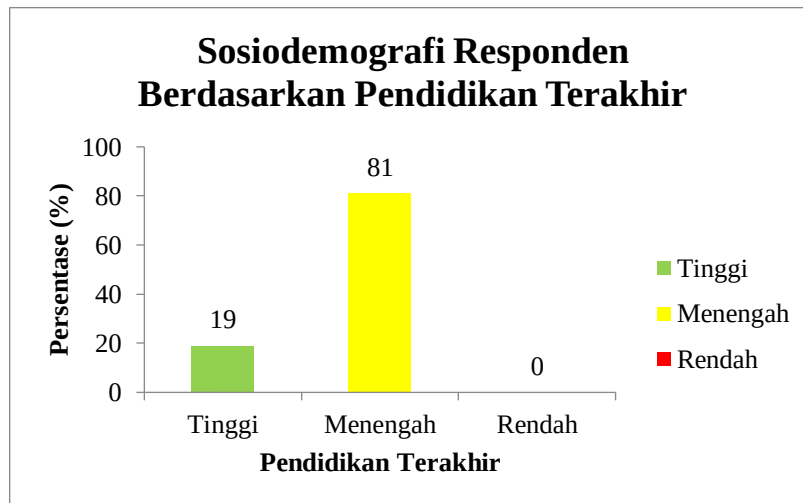
kategori usia prima yang idealnya telah bekerja. Oleh karena itu, obat-obat bebas lebih dipilih sebagai pengobatan untuk mengatasi penyakit ringan yang dialami pada waktu aktivitasnya karena obat bebas mudah diperoleh.

Analisis karakteristik responden berdasarkan Pendidikan Terakhir

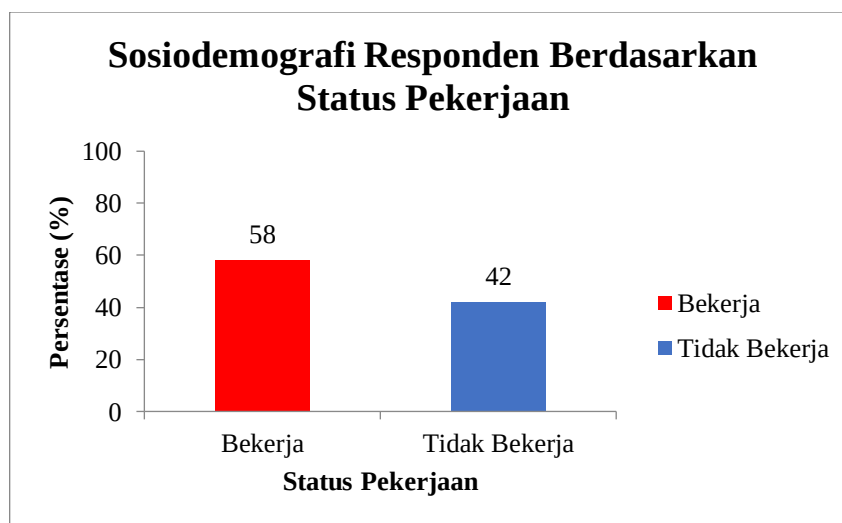
Pendidikan terakhir responden yang diperoleh sebanyak 0 responden (0%) Tidak sekolah-SD, 80 responden (80%) SMP-SMA dan 20 responden (20%) Perguruan Tinggi (**Gambar. 3**). Responden yang paling banyak yang datang melakukan swamedikasi ke apotek yaitu responden yang pendidikan terakhirnya sekolah menengah, diikuti responden dengan tamatan

perguruan tinggi. Menurut penelitian Sari (2020) menyatakan bahwa responden dengan tingkat pendidikan terakhir SMA/ sederajat yang paling banyak melakukan swamedikasi dengan persentase 57,25%.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Mardiyah (2016) dimana responden yang paling banyak melakukan swamedikasi adalah responden dengan tamatan SLTP/MTS/ Sederajat. Alasan ini terjadi karena banyaknya informasi yang ada tentang obat baik di media massa berupa iklan TV, baliho atau warung-warung yang mungkin mudah diterima oleh masyarakat yang memiliki pendidikan menengah (Syeima, 2009).



Gambar 3. Data Sosiodemografi Responden Pendidikan Terakhir



Gambar 4. Data Sosiodemografi Responden Status Pekerjaan

Penelitian yang dilakukan oleh Hidayati *et al*, (2017) mengatakan bahwa dengan tingkat pendidikan menengah, mampu mempunyai tingkat pengetahuan terhadap swamedikasi yang tinggi. Menurut Budiman (2010) menyatakan semakin tinggi tingkat pendidikan masyarakat maka semakin banyak pula tuntutan dan harapan mereka, baik dalam pelayanan kesehatan maupun pada masalah yang berkaitan sehari-hari. Selain itu pendidikan tinggi juga cenderung meningkatkan kesadaran akan kondisi kesehatan dan konsekuensi penggunaan layanan kesehatan (Sari *et al*, 2018).

Analisis Karakteristik Responden Berdasarkan Pekerjaan

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan sebanyak 42 responden (42%) yang tidak bekerja dan sebanyak 58 responden (58%) yang bekerja. Pada hasil penelitian status pekerjaan ini didapatkan responden yang terbanyak mengisi kuesioner yaitu pada responden yang bekerja. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Sari (2020) yang mengatakan bahwa yang paling banyak melakukan swamedikasi adalah responden yang bekerja yaitu sebanyak 62,90% responden.

Hasil penelitian Stephanie (2012) tentang swamedikasi batuk-pilek pada ibu-ibu PKK di Kecamatan Nglipar juga mengatakan bahwa persentase responden dengan status bekerja sebesar 63,3% sedangkan pada responden yang tidak bekerja sebesar 36,7%. Premchahand (2015) penelitiannya menyebutkan bahwa pekerjaan dapat menyebabkan tingkat stres yang tinggi. Menurut Zainuddin *et al* (2015) Pekerjaan seseorang dapat mempengaruhi tingkat aktivitas fisiknya, sedangkan tingkat aktivitas fisik seseorang akan mempengaruhi kesehatannya.

Analisis Karakteristik Responden Berdasarkan Pekerjaan

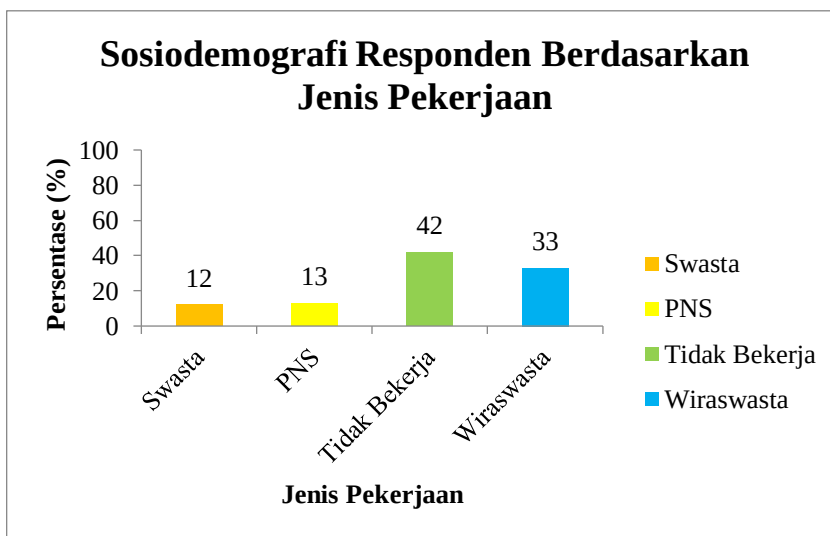
Berdasarkan status pekerjaan yaitu sebanyak 42 responden (42%) yang tidak memiliki pekerjaan. Responden dengan jenis pekerjaan wiraswasta sebanyak 33 responden (33%), responden dengan jenis pekerjaan swasta sebanyak 12 responden (12%) dan 13 responden (13%) dengan jenis pekerjaan PNS (**Gambar. 5**). Data tersebut didapatkan bahwa angka

swamedikasi responden dengan status tidak bekerja lebih tinggi dibandingkan dengan responden yang bekerja. Hal ini dikarenakan dalam penelitian ini banyak ibu rumah tangga yang bersedia mengisi kuesioner. Hal ini kemungkinan dikarenakan responden tidak bekerja ini banyak yang mengisi link kuesioner adalah ibu rumah tangga dan mahasiswa. Sehingga lebih banyak memiliki waktu luang daripada yang bekerja dan juga dikarenakan peneliti melakukan pengambilan sampel pada jam kerja yang kemungkinan akan mengganggu aktifitas dari responden yang sedang mengejar waktu kerja dan lebih memilih untuk tidak mengisi kuesioner.

Menurut penelitian Suherman & Febrina (2018) mengatakan bahwa ibu rumah tangga lebih banyak melakukan swamedikasi, karena ibu rumah tangga dianggap lebih mengetahui kondisi kesehatan anggota keluarganya, memiliki kepekaan yang lebih besar dalam melakukan pencarian pengobatan. Serta umumnya karena tidak mempunyai penghasilan sendiri, kebanyakan dari mereka melakukan pengobatan sendiri sebab dianggap lebih murah dan praktis tanpa perlu kedokter. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Farizal (2015) menunjukkan bahwa yang paling banyak melakukan swamedikasi adalah mahasiswa dan ibu rumah tangga yaitu sebanyak 51 responden, karena dari tingkat kesibukan serta gaya hidup yang kurang memperhatikan kesehatan, serta stres yang mudah terjadi. Penelitian yang dilakukan oleh Aljaouni *et al*, (2015) di Saudi Arabia menunjukkan hasil bahwa prevalensi swamedikasi (pengobatan sendiri) di kalangan mahasiswa cukup tinggi yaitu 64,8%.

Persepsi Masyarakat Terhadap Pemberian Informasi Obat Swamedikasi Masa Pandemi Covid-19 Di Kecamatan Tuah Madani Kota Pekanbaru

Pada penelitian ini diperoleh data persentase rata-rata persepsi masyarakat yaitu sebesar 79,11% dengan interpretasi kategori baik (Tabel. 2). Hal ini dikarenakan petugas apotek telah melakukan pelayanan yang optimal, sehingga responden memiliki rata-rata persepsi yang interpretasi baik.



Gambar 5. Data Sosiodemografi Responden Jenis Pekerjaan

Tabel 2. Gambaran Persepsi Responden

No.	Indikator	Deskriptif Persentase (%)	Persepsi
1	Kehandalan (<i>Reability</i>)	75,2	Baik
2	Ketanggapan (<i>Responsiveness</i>)	74,0	Baik
3	Perhatian (<i>Empaty</i>)	83,33	Sangat Baik
4	Jaminan (<i>Assurance</i>)	80,13	Baik
5	Fasilitas Berwujud (<i>Tangible</i>)	82,90	Sangat Baik
Rata-rata		79,11	Baik

Hasil ini merupakan rata-rata dari 5 dimensi persepsi yaitu kehandalan (*reliability*) 75,20% dalam kategori baik, ketanggapan (*responsiveness*) 74% dalam kategori baik, perhatian (*empaty*) 83,33% dalam kategori sangat baik, jaminan (*assurance*) 80,13% dalam kategori baik, dan fasilitas berwujud (*tangible*) 82,90% dalam kategori sangat baik (**Tabel. 2**).

Hasil penelitian untuk dimensi dengan kategori interpretasi baik didapat pada dimensi kehandalan (*Reability*) dengan persentase 75,2%, ketanggapan (*Responsiveness*) dengan persentase 74,0% dan jaminan (*Assurance*) 80,13%. Hasil juga menunjukkan dari 30 pernyataan ada 3 dengan kategori tidak baik. Beberapa nilai yang tidak baik tersebut kemungkinan disebabkan karena petugas yang melayani swamedikasi beragam, seperti adanya apoteker, tenaga teknis kefarmasian, asisten tenaga kefarmasian dan ada

yang bukan tenaga kefarmasian seperti *sales promotion girl* (SPG) ikut serta memberikan pelayanan kefarmasian. Menurut penelitian yang dilakukan Mifta (2020), menyatakan responden masih kurang paham atas pemberian informasi obat karena masih terdapat yang bukan tenaga kefarmasian yang melakukan pelayanan kefarmasian terutama pada pelayanan pemberian informasi obat, selain itu petugas apotek baik tenaga kefarmasian atau lainnya juga harus memperhatikan bahwa responden harus mengerti tentang obat yang diminumnya baik itu cara pakai, indikasi obat, aturan pakai dan lainnya.

Hal ini didukung dengan hasil penelitian yang dilakukan Jannah (2021) yang mana didapatkan saat praktek swamedikasi berlangsung di apotek dilakukan oleh responden yang tidak memiliki latar belakang pendidikan bidang kefarmasian

sebesar 20,40% responden. Faktor kemungkinan lain responden memiliki persepsi tidak baik yaitu adanya keterbatasan dalam interaksi antara responden dengan petugas apotek dan keharusan petugas apotek maupun responden menggunakan masker sehingga menghambat komunikasi antara satu sama lainnya.

Pemberian informasi obat secara lisan yang jelas dan mudah dipahami merupakan salah satu syarat utama keberhasilan pengobatan. Penyampaian informasi obat, sebaiknya digunakan bahasa yang sederhana dan mudah dipahami sehingga konsumen dengan cepat menangkap maksud penjelasan dari petugas apotek tersebut. Penggunaan bahasa daerah kadang diperlukan untuk menyampaikan informasi obat (Anas *et al.*, 2014).

Hasil penelitian dengan interpretasi sangat baik didapatkan pada dimensi (*empaty*) dengan persentase 83,33% dan fasilitas berwujud (*tangible*) dengan persentase 82,90% (**Tabel. 2**), hal ini dikarenakan karena responden merasa bahwa mereka percaya informasi yang disampaikan petugas apotek mengenai obat yang diberikan telah dijamin kebenarannya. Pentingnya bagi apotek jaminan yang baik kepada pasien terhadap pelayanannya, ketidak hati-hatian petugas apotek dapat memberikan dampak yang fatal bagi pasien, dari peran apotek dengan memberikan obat yang tepat sesuai dengan kebutuhan pasien, pemberian informasi tentang indikasi, cara pakai, dan efek samping obat juga ikut memberikan andil dalam meningkatkan penilaian pasien. Oleh karena itu petugas harus memiliki pengetahuan yang cukup tentang obat-obatan. Informasi yang salah akan menjadi pemicu terjadinya *medication error* pada pasien (Waluyo, 2015).

Persepsi responden sangat baik untuk fasilitas berwujud (*tangible*) ini kemungkinan karena responden merasa nyaman karena hampir semua apotek telah mengikuti protokol kesehatan dan hampir semua apotek dan apotek menyediakan alat cuci tangan/*hand sanitizer*. pelanggan dan apotek menjaga jarak 1 atau 2 meter antara petugas, dan memasang pelindung plastik transparan di lokasi perdagangan di atas meja (IAI, 2020).

Secara keseluruhan persepsi masyarakat terhadap pemberian informasi obat swamedikasi masa pandemi COVID-19 di kecamatan Tuah Madani kota Pekanbaru tahun 2021 adalah 79,11% dengan interpretasi di kategori baik (**Tabel 2**). Menurut Akhmad *et al.*, (2015) pada penelitiannya didapatkan persepsi pasien tentang obat generik masih buruk, pengetahuan pasien tentang obat generik masih kurang. Hal ini didukung dengan pendapat Sari & Prihandiwati (2019) yang mengatakan informasi obat yang disampaikan kepada pasien harus benar, jelas, mudah dimengerti dan akurat sehingga informasi obat tersebut diharapkan dapat membantu pasien dalam mengkonsumsi obat yang tepat dan rasional sehingga tercapainya kesembuhan pasien.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan diperoleh hasil bahwa persepsi responden terhadap pemberian informasi obat swamedikasi di Kecamatan Tuah Madani kota Pekanbaru pada masa pandemi adalah dengan persepsi baik dengan persentase 79,11%. Persepsi tersebut terdiri dari dimensi kehandalan (*reability*) dengan nilai baik (75,20%), dimensi ketanggapan (*responsiveness*) baik (74,0%), dimensi perhatian (*empaty*) sangat baik (83,33%), dimensi jaminan (*assurance*) sangat baik (80,12%), dan yang terakhir dimensi fasilitas berwujud (*tangible*) sangat baik (82,9%).

Referensi

1. Al-Ghamdi S, Alfauri T.M, Alharbi M.A, Alsaihati M.M, Alshaykh M.M, Alharbi A.A, Aljaizani N.S, Allehiby I.A, Alzahrani M.A & Alharbi A.S. 2020. Current self-medication Practices in the Kingdom of Saudi Arabia: An Observational Study. *Pan African Medical Journal*. 37(51): 1– 16.
2. Akhmad AD, Satibi S, & Puspendari DA. 2015. Analisis Persepsi dan Faktor yang Mempengaruhi Persepsi Terhadap Penerapan Sistem Pembiayaan JKN pada Fasilitas Kesehatan Penunjang di Yogyakarta. *Jurnal Manajemen dan Pelayanan Farmasi (Journal of Management and Pharmacy Practice)*. 5(4), 267-274.
3. Aljaouni ME, Hafiz AA, Alalawi HH, dan

- Alkhawaja. 2015. I. Self-Medication Practice Among Medical and Non-Medical Students at Taibah University. Madinah, Saudi Arabia. *International Journal of Academic Scientific Research*. 3(4). h. 54-65.
4. Ama PGB, Wahyuni D & Kurniawati Y. 2020. Analisis Faktor yang Berhubungan Dengan Preferensi Dalam Memilih Pelayanan Kesehatan Pada Mahasiswa Perantau. *Jurnal Ilmu Kesehatan Masyarakat*. 9(1): 35-42.
5. Anas Y, Djatmiko M, Nourwaqiana. 2014. Penilaian Konsumen Terhadap Peran Apotek Sebagai Tempat Pelayanan Informasi Obat di Kabupaten Kudus. *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*. Semarang. Vol.11 No.1
6. Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2016 *Satu Tindakan Untuk Masa Depan: Health Edutainment OOTK*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta.
7. Badan Pusat Statistik. 2020. *Persentase Penduduk Indonesia yang Mengobati Sendiri*. Badan Pusat Statistik Indonesia. Jakarta.
8. Budiman. 2010. *Buku Ajar Penelitian Kesehatan Jilid Ke-1*. Cimahi; Stikes Ahmad Yani.
9. Depkes. 2006. *Pedoman Penggunaan Obat Bebas dan Bebas Terbatas*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
10. Farizal F. 2015. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Pasien Melakukan Swamedikasi Obat Maag Di Apotek Bukittinggi. *Jurnal Kesehatan Perintis (Perintis's Health Journal)*. 2(2).
11. Ha T, Van Nguyen AMT & Nguyen HST. 2019. Self-medication Practices Among Vietnamese Residents in Highland Provinces, *Journal of Multidisciplinary Healthcare*. 12: 493-502.
12. Hamid R, Nooriska G, Wijaya N & Yuda A. 2014. *Profil Penggunaan Obat Antasida Yang Diperoleh Secara Swamedikasi di Apotek Surabaya*. Universitas Airlangga.
13. Hassali MA, Shafie AA, Al-Qazaz H, Tambyappa J, Palaian S & Hariraj V. 2011. Self-medication Practices Among Adult Population Attending Community Pharmacies in Malaysia: An Exploratory Study. *International Journal of Clinical Pharmacy*, 33(5): 794-799.
14. Hermawati D. 2012. Pengaruh Edukasi Terhadap Tingkat Pengetahuan dan Rasionalitas Penggunaan Obat Swamedikasi Pengunjung di Dua Apotek Kecamatan Cimanggis, Depok. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Studi Farmasi UI.
15. Hidayati A, Dania H, Puspitasari MD. 2017. Tingkat Pengetahuan Penggunaan Obat Bebas dan Obat Bebas Terbatas Untuk Swamedikasi Pada Masyarakat RW 8 Morobangun Jogotirto Berbah Sleman Yogyakarta. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 3(2): 140- 147.
16. IAI. 2020. *Panduan Praktis Untuk Apoteker Menghadapi Pandemi Covid 19*, Pengurus Pusat Ikatan Apoteker Indonesia, 53(9): 1779-1791. PT ISFI Penerbitan.
17. Jannah W. 2021. Hubungan Sosiodemografi Terhadap Perilaku Petugas Apotek Pada Penggalan Informasi Swamedikasi Common Cold di Apotek-Apotek 69 Kota Pekanbaru, *Skripsi*, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau Yayasan Univ Riau, Pekanbaru.
18. Kartajaya H, Taufik Mussry J, Setiawan I, Asmara B, N TW, Satrio B, Jie II, Yulianti L & Darmaja A. 2011. *Self Medication Who Benefits and Who is at Loss*. PT. Jakarta : Markplus Indonesia.
19. Mardiyah IK. 2016. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Perilaku Pasien Swamedikasi Obat Antinyeri Di Apotek Kabupaten Rembang Tahun 2016. *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
20. Mifta Z. 2020. Tingkat Kepuasan Responden Terhadap Pemberian Informasi Obat di Apotek Mandiri Kota Pekanbaru, *Laporan Tugas Akhir*, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau Yayasan Univ Riau. Pekanbaru.
21. Notoatmodjo. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
22. Onchonga D, Omwoyo J & Nyamamba D. 2020. Assessing the Prevalence of Self-Medication Among Healthcare Workers Before and During the 2019 SARS-CoV-2

- (COVID-19) Pandemic in Kenya. *Saudi Pharmaceutical*.
23. Oscar L. & Jauhar M. 2016. *Dasar-Dasar Manajemen Farmasi*. Jakarta: Prestasi Pustaka
 24. Parasuraman. 2011. *Delivering Quality Service*. USA: The Free Pres.
 25. Permenkes. 2016. PMK RI No.73/2016 *Standar Pelayanan Kefarmasian di Apotek*, Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 73 Tahun 2016 Tentang *Standar Pelayanan Kesehatan di Apotek*.
 26. Premchand V. 2015. A Study of the Level of Stress Among Employed and Unemployed Youth. *New Man Int. J. Multidisciplinary Stud.* 2(8). 28-32
 27. Sari RP, & Prihandiwati E. 2018. Gambaran Penggalan dan Pemberian Informasi Obat Attapulgit di Apotek Kecamatan Banjarmasin Timur, *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 2(1), 75-81.
 28. Sari EN, Citraningtyas G & Jayanto I. 2019. Tingkat Kepuasan Pasien Peserta Jaminan Kesehatan Nasional (JKN) Rawat Jalan Terhadap Kualitas Pelayanan Obat Di Instalasi Farmasi Rumah Sakit Siloam Manado. *Pharmacon*, 8(3).
 29. Sari YK. 2020. Gambaran Tingkat Pengetahuan dan Perilaku Masyarakat Tentang Swamedikasi di Rumah Tangga di Kecamatan Pakualaman Yogyakarta. *Skripsi*. Universitas Islam Indonesia. Yogyakarta.
 30. Sketcher-Baker K. 2017. *Guide to Informed Decision-making in Health Care*. 2nd. Ed., Queensland Health, pp. 9, 67.
 31. Stephanie A. 2012. Swamedikasi Batuk-Pilek Pada Ibu-Ibu Pkk Di Kecamatan Nglipar Kabupaten Gunungkidul (Kajian Pengetahuan Dan Sikap). *Skripsi*. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
 32. Suherman H & Febrina D. 2018. Pengaruh Faktor Usia, Jenis Kelamin, Dan Pengetahuan Terhadap Swamedikasi Obat, *Jurnal Kesehatan, Kebidanan dan Keperawatan*, 10(2): 94-108.
 33. Syeima CN. 2009. Gambaran Pengetahuan dan Karakteristik Masyarakat RW 08 Kelurahan Pisangan Barat Ciputat Tentang Pengobatan Sendiri Terhadap Nyeri Menggunakan Obat Anti nyeri. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri, Syarif Hidayatullah. Jakarta.
 34. Wahyuni NS. 2012. Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Pemanfaatan Pelayanan Kesehatan di Puskesmas Sumber Rejo Kota Balikpapan Provinsi Kalimantan Timur Tahun 2012. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia.
 35. Walgito B. 2013. *Pengantar Psikologi Umum*. Yogyakarta: Rajawali Perss.
 36. Waluyo KOWOW. 2015. Medication Error dalam Keperawatan. *Jurnal Keperawatan*. 8(3), 173-178.
 37. World Health Organization. 2000. *Guidelines for the Regulatory Assessment of Medicinal Products for Use in Self-medication*. Geneva : World Health Organization.
 38. Zainuddin M, Utomo WH. 2015. Hubungan Stres dengan Kualitas Hidup Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2. *Jurnal JOM*, 2(1).
 39. Zeenot S. 2013. *Pengelolaan dan Penggunaan Obat Wajib Apotek*. Yogyakarta: D-Medika.

Artikel
Review

Immunoregulation of Multiple Sclerosis by Helminth Therapy: A Literature Review

Editha Renesteen¹

Abstract: Multiple sclerosis (MS) is a chronic inflammatory disease of the central nervous system (CNS) which is characterized by the recruitment of T cells into the CNS, leading to demyelination and axonal damage. Currently, there are limited options for MS therapy, thus researchers start to use helminths therapy as a new therapeutic agent. Helminths are promising organisms to treat autoimmune diseases like MS by interfering the host's immune responses. Several helminths, including *Trichinella spiralis*, *Trichuris suis*, *Fasciola hepatica*, *Schistosoma japonicum* and *Schistosoma mansoni* are under investigation in animal models for MS, experimental autoimmune encephalitis (EAE). Furthermore, *Trichuris suis*, *Fasciola hepatica* and *Schistosoma mansoni* are being examined in patients. This review outlines basic insight of MS, immunoregulation mechanisms induced by helminths, current helminths therapy for MS as well as helminths therapy for MS application in the future.

Keywords: multiple sclerosis, helminth therapy, immunoregulation, immune system, autoimmunity

Abstrak: Multiple sclerosis (MS) adalah penyakit inflamasi kronis pada sistem saraf pusat (SSP) yang ditandai dengan perekrutan sel T ke dalam SSP, yang menyebabkan demielinasi dan kerusakan aksonal. Saat ini, pilihan terapi MS masih terbatas, sehingga peneliti mulai menggunakan terapi cacing sebagai agen terapi baru. Cacing adalah organisme yang menjanjikan untuk mengobati penyakit autoimun seperti MS dengan mengganggu respons imun inang. Beberapa cacing, termasuk *Trichinella spiralis*, *Trichuris suis*, *Fasciola hepatica*, *Schistosoma japonicum* dan *Schistosoma mansoni* sedang diselidiki pada model hewan untuk MS, ensefalitis autoimun eksperimental (EAE). Selanjutnya, *Trichuris suis*, *Fasciola hepatica* dan *Schistosoma mansoni* telah dilakukan pemeriksaan pada pasien. Ulasan ini menguraikan pengetahuan tentang MS, mekanisme imunoregulasi yang disebabkan oleh cacing, terapi cacing saat ini untuk MS serta terapi cacing untuk aplikasi MS di masa depan.

¹Faculty of Military Pharmacy,
The Republic of Indonesia
Defense University Bogor,
16810, West Java, Indonesia

Korespondensi:

Editha Renesteen
editha.renesteen@idu.ac.id

Kata kunci: multiple sclerosis, terapi kecacingan, imunoregulasi, sistem imun, autoimunitas

Introduction

Multiple sclerosis is a chronic inflammatory disease of the central nervous system (CNS) which is characterized by the recruitment of T cells into the CNS, leading to demyelination and axonal damage (1, 2). Patients developing this disease will have major motor and sensory deficiency and show cognitive dysfunction, like memory deterioration. Both interaction of chemokines and the binding of leukocyte integrin with endothelial molecules will stimulate the entry of leukocytes to the CNS by crossing the blood brain barrier. This process is followed by the firm adhesion of leukocytes onto the vascular endothelium. Once the leukocytes are activated, it will stimulate myelin phagocytosis leading to demyelination (3).

Current treatment for multiple sclerosis focusses on immunosuppressive or immunomodulatory activities in relapsing-remitting multiple sclerosis (3). Laquinimod, for instance, is currently being tested as therapeutic drug in multiple sclerosis since it reduces the aggression of pathogenic effector T cells in the CNS tissue. The decreased aggression leads to a significant decrease in the migration of memory T helper type 1 (Th1) and T helper type 17 (Th17) lymphocytes across the blood brain barrier (4). However, this treatment may have severe side effects and can potentially interfere with immune balance (3). Currently, there are limited options for the therapy of multiple sclerosis, therefore researches related to this area is still ongoing. Current researches also investigate the treatment of multiple sclerosis by using helminth therapy.

Parasitic helminths can cause a chronic infection in humans by regulating host immune responses. Interestingly, this mechanism can also cause a positive effect as it can protect against several inflammatory immune disorders in humans, such as multiple sclerosis, inflammatory bowel disease, and allergies (5). Helminth infection suppresses immunopathology by triggering the induction of regulatory T (Treg) cells and Th2 responses. The responses causing the suppression of bystander responses to self-antigen (6). This mode of action can be a potential

solution to treat several immune diseases in humans.

Studies have shown that there is a link between helminth infection and the prevalence of multiple sclerosis. Multiple sclerosis patients infected with helminths have a lower number of recurrences compared to the uninfected patients (7). Helminths may induce strong immunomodulatory effects on the host for a longer time period (7). These studies generated increased interest in the mode of action by which helminth can trigger immunomodulatory effect in humans. There are several regulatory mechanisms of the immune system which are triggered upon helminth infection, such as Treg cells, regulatory B (Breg) cells, alternatively activated macrophages, and tolerogenic dendritic cells.

The primary objective of this paper is to review recent research papers on helminth therapy of multiple sclerosis (MS). First, this paper will focus on MS disease. After that, immunoregulatory mechanisms induced by helminths will be investigated. Eventually, current helminths therapy followed by helminths therapy for MS in the future will be discussed.

Multiple Sclerosis (MS)

Multiple sclerosis (MS) is the most common cause of neurological disability in developed countries. As an autoimmune disease, MS is initiated by dysregulated T cells on myelinated nerve cells (8), followed by irregular periods of remission and relapse (9). The major histological abnormality of MS is the plaque formation, inflammation and tissue damage. These can lead to several complications. It begins with the attacks by immune system lead to of neurological dysfunction, such as loss of vision in one eye, weakness, numbness, double vision, incoordination (Fleming, 2013), speech disorder, seizure, action tremor and depression (9).

The pathology of multiple sclerosis is characterized by the presence of inflammation (10) and demyelinated areas in white and grey matter in coronal brain, spinal cord (11), thalamus, hypothalamus, hippocampus or cerebellum (10).

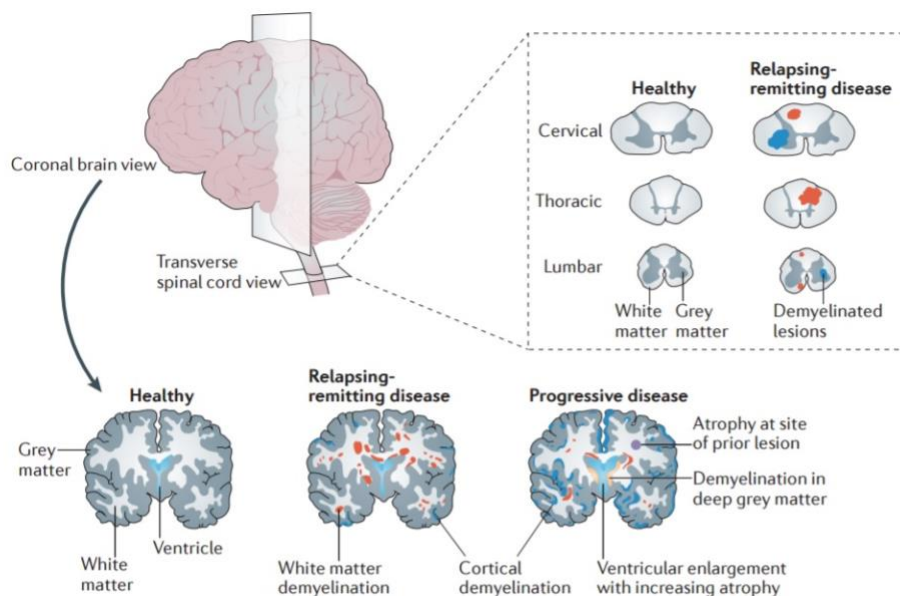


Figure 1. The pathology of multiple sclerosis. *Adapted from Dendrou et al., 2015*

These demyelinated areas called plaques or lesions. In the coronal brain of patients with progressive disease, the characteristic feature is not only in cortical demyelination, but also demyelination in deep grey matter, atrophy at site of prior lesion as well as ventricular enlargement with increasing atrophy as can be seen in **Figure 1** (12). The cause is possibly due to axonal injury and loss occur in the disease lesions which correlates with inflammation (13). Demyelinated areas in the white matter can partially be remyelinated and repaired. Furthermore, relapsing-remitting disease in the spinal cord also shown demyelinated lesions area as the characteristic feature in the brain of patients with MS (12).

The main cause of MS is not known. Nevertheless, there are several etiologic factors involved such as genetics, race, environment, infections, toxins, the immune system, allergies (14), and smoking (15). Major heritable genetic factors found for MS patients, for instance, is the human leukocyte antigen (HLA) class II region. It is shown that there is HLA class II deficiency in patients with MS. The reason behind this remains unclear (16). The main characteristics of MS are periodic neurologic attacks, disability and reduced physical, socio-economic and health conditions during the age of 30 (14). Females and younger people aged 18-27 have higher risk for

developing MS. Moreover, family history with MS will also increase the risk of MS (17).

The periods of relapse and remission in MS occur for several days or weeks and are followed by partial or complete recovery, which is the characteristic of the relapsing-remitting subtype of MS (RRMS). After a period of time, the speed of the disease may change to the steady progression of disability and form the secondary progressive subtype of MS (SPMS). Primary progressive MS (PPMS) can be formed in the minority of patients characterized by dispitious progression (18).

Immunoregulatory Mechanisms Induced by Helminths

Immunoregulation can be defined as the activity of integrated control systems which balance the individual components of immunity. Normally, immunoregulation urges immune homeostasis in several ways. First, it ensures that all the immune response work optimally and at the right time. Secondly, it promotes active tolerance to control excessive immune responses to parasites and pathogens, thus the immune-mediated damage to host tissue is limited (18). The immune system will protect the body from reacting to self-antigens, which otherwise cause autoimmune diseases. Autoimmune diseases have a correlation to self-tolerance in the host.

Self-reactive T and B cells in the central lymph organs are controlled to maintain self-tolerance (19). Tolerance to self-antigens is preserved by preventing the maturation of self-antigen-specific lymphocytes T and B cells. The maturation of self-antigens T and B cells are developed in the thymus and bone marrow and are normally inactivated by peripheral mechanisms. The pathologic response of autoimmune diseases directly against self-antigens due to a failure of mechanism in T or B cell tolerance (20). In order to against autoimmunity, T cells with autoreactive T cell antigen receptors (TCRs) will be eliminated during the development in thymus. This process called negative selection (21). Failure in negative selection T and B cells during maturation create an immune response to the host which finally results in autoimmune diseases.

The process take place in autoimmune diseases includes pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) or microbe-associated molecular patterns (MAMPs) and danger-associated molecular patterns (DAMPs). PAMPs are released during virus or bacterial infections while MAMPs are released from inflammatory commensal bacteria and DAMPs are released by dying cells during inflammation. These molecules bind to the pathogen recognition receptors (PRRs) on innate immune cells leading to the maturation of dendritic cells (DCs). The mature DCs will finally induce Th2 and Th17 cells which are responsible in the induction of allergies and autoimmune diseases respectively (22).

The development of autoimmune diseases, including MS are inversely correlated to helminth infection (22). This inverse correlation can be explained by hygiene hypothesis. According to the hygiene hypothesis, MS is associated with early life normal infections in high levels of sanitation (18, 23). The long co-adaptation between parasites and humans affects human immune responses. Helminths can be categorized as beneficial rather than harmful parasites (15). This is due to the fact that human infections with helminths can diminish the incidence of MS (18) in which correlates to Th1, Th2 and Th17 response, Treg cells as well as B cells as can be seen in **Figure 2** (24).

T cells perform as a primary role in modulating autoimmune diseases. Naïve T cells can differentiate into helper (Th) and regulatory (Tregs). The three main subsets of T helper cells are Th1, Th2 and Th17 cells. Th1 cells produce proinflammatory cytokines like tumor necrosis factor alpha (TNF α), interferon gamma (IFN- γ) and interleukin (IL)-12. Moreover, proinflammatory responses during autoimmune diseases are also mediated by Th1 (24). On the other hand, Th2 cells generate cytokines like IL-4, IL-5, IL-10 and IL-13 which are strongly induced by helminths (22). Furthermore, Th2 cells can prevent Th1 cells activities in mediating autoimmune diseases. Th17 cell differentiation are involved in the immune system response during inflammation. Th17 lymphocytes secrete IL-17 as a pro-inflammatory cytokine which is highly found in MS (24). The alteration of Th responses from Th1 and Th17 to Th2 is a possible underlying mechanism for the protective effect of helminths towards MS (22).

Helminth's tolerance is characterized by the production of anti-inflammatory cytokines (24). Anti-inflammatory cytokines, such as IL-10 and TGF- β are produced during helminth infection and they will promote the induction of FoxP3 in T cells+ which is transcription factor characteristic of Treg cells (22). IL-10 and TGF- β lead to a reduction of Th2 cytokines, ablate the Th1 cytokines and suppress T cell proliferation against helminths (24). Furthermore, the replenishment of CD4+ CD25+ FoxP3+ Treg cells in peripheral blood can also be associated to the immunomodulatory effects of helminth infections. Treg cells, which are induced by helminths, can suppress the Th1 and Th17 response (22).

A recent study has shown that apart from Treg cells, B cells also take an important role in MS (2). Moreover, B cells are also able to produce antibodies, including autoantibodies (24). It was concluded that B cells can significantly inhibit the proliferation of activated CD4+ CD25- T cells. Furthermore, the secretion of IL-10 and TGF- β are also involved in the regulatory effects of B cells. B cells from MS patients have a reduction in IL-10 production and an increased secretion of pro-inflammatory cytokines such as TNF α (2).

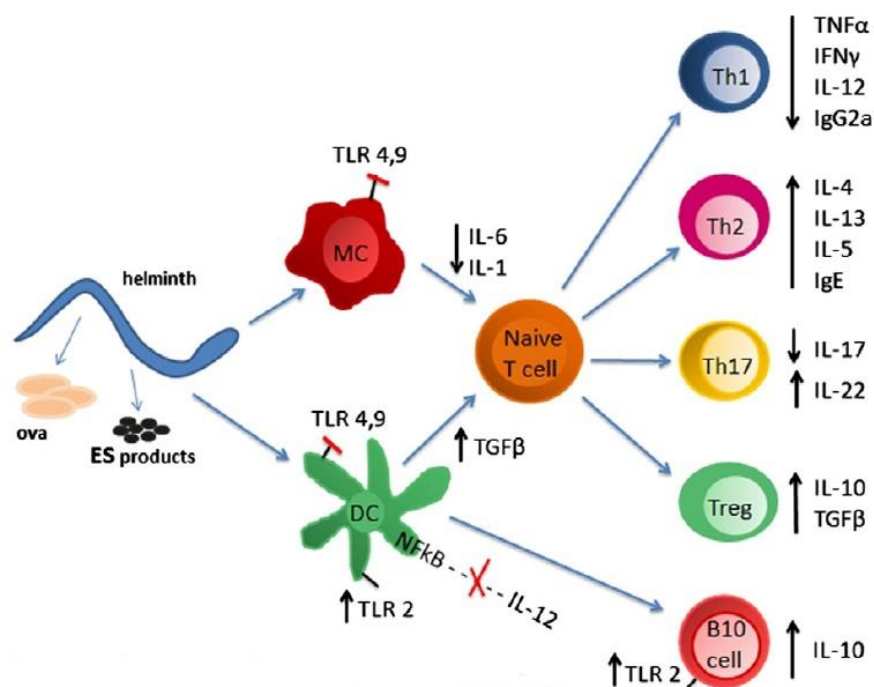


Figure 2. Immunoregulatory mechanisms induced by helminths. *Adapted from Bashi et al., 2015*

Nevertheless, there are B cells which can downregulate immune response by generating regulatory cytokines and directly interacting to pathogenic T cells called B regulatory cells (Bregs) (24). The protective roles by helminths are important in the development of Bregs. Eventually, the increased production of IL-10 by Treg cells, Th2 cells, B cells and innate immune cells such as macrophages are involved in the helminth mediated the suppression of inflammatory diseases (25).

Current Helminth Therapy for MS

The treatment of MS currently focuses on immunosuppressive compounds (3), for instance laquinimob (4). Moreover, the treatment also focuses on recombinant interferon (IFN)- β (26). Laquinimob reduces the aggression of pathogenic effector T cells in the CNS tissue. It will lead to the alteration of Th1 and Th17 across the blood brain barrier (4). In addition, the treatment with recombinant IFN- β , type I IFN, is also used for the first-line treatment for RRMS. This treatment results in the induction of anti-IFN- β neutralizing antibodies (NABs). The NABs are associated with the diminish of disease activity in magnetic resonance imaging (MRI) and increased expression of the immunoregulatory cytokine IL-

10 and FoxP3+ in Treg cells. Furthermore, IL-10 plays a key role in decreasing the disease activity as assessed by MRI (26). The experiment of these therapy for MS further investigated using animal models.

Experimental autoimmune encephalitis (EAE) is the most frequently studied animal model of MS (8). It is a T-cell mediated inflammatory diseases associated with the development of demyelinating lesions in the central nervous system (CNS). EAE model is used to study the effect of helminths and bacteria in RRMS (27), such as *Trichinella spiralis*, *Trichuris suis*, *Fasciola hepatica*, *Schistosoma japonicum* and *Schistosoma mansoni*.

Trichinella spiralis is a parasitic nematode targeting mammals which provokes Th2 and anti-inflammatory type responses in an infected host. The balance of Th1 and Th2 responses affect the outcome of MS. *T. spiralis* induce Th2 and suppress Th1 cell-mediated diseases. Furthermore, *T. spiralis* infection also suppress the production of IL-17 which is responsible for EAE development and initiation. Treg cells are considered as an important regulator of immune response. Additionally, Treg cells are responsible for modulation and suppression of immune

responses for helminths infection. In the case of MS, Treg cells are able to prevent EAE severity in rats (28). Treg cells induced in *T. spiralis* infection elevate the levels of IL-10 and TGF- β . IL-10 plays role in recovery the EAE and TGF- β is important for the survival of FoxP3+ Treg cells (29).

Trichuris suis ova (TSO) uses vital eggs of non-pathogen parasite *T. suis* which was studied in animal. Intriguingly, *T. suis* can colonize humans, but there is no report to cause human disease (30). TSO was effective for inflammatory bowel disease (IBD) treatment (25). This beneficial effect in IBD underlies the next investigations using the same therapy for MS. Fleming and colleagues studied that after TSO administration in patients with MS, the new active MRI lesions are decreased. Most of the patients develop an anti-inflammatory response, which is associated with augmented serum levels of IL-4 and IL-10 (18). Furthermore, TSO infections in MS not only increase IL-10 producing Breg cells, but also escalate Treg cells, alternatively activated macrophages (31). TSO infections also induce the production of Th2 related cytokines like IL-4, IL-5, IL-9 and IL-13 which gives anti-inflammatory effect (31). On the other hand, other study reported that there is no significant change in anti-inflammatory IL-10 levels during TSO therapy (25). This is because IL-10 is not the dominant player in immune suppression by helminths. However, the increase of IL-4 after 2 months of therapy in this study is reported. Moreover, the number of CD4+ and CD8+ T cells are slightly decreased after 2 months of therapy (25).

Infection with *Fasciola hepatica* in EAE has been studied and it showed that *F. hepatica* attenuated the symptoms of EAE through TGF- β -mediated suppression of Th1 and Th17 response (22). Furthermore, FhHDM-1, a 68-mer peptide secreted by *F. hepatica*, has a protective effect in relapsing-remitting EAE by modulating the function of macrophages to interfere with the release of pro-inflammatory cytokines and prevents autoimmune disease (15).

Soluble egg antigen (SEA) from *Schistosoma japonicum* prevents EAE in animal models. SEA, a complex extract of soluble molecules from disrupted eggs, is able to induce Th2 responses. The mechanisms behind this still unclear.

Preimmunization of mice with SEA from *S. japonicum* create a switch from Th1 to Th2 immune response after EAE induction. This probably due to the glycosylated carbohydrates from SEA which give immunological properties of egg antigens (32). Apart from *S. japonicum*, the mice infected with *Schistosoma mansoni* can reduce the incidence of EAE due to Th1 response downregulation, not the Th2 switching (32).

The study of helminths infection in patients with MS is still ongoing, for instance in *T. suis*, *F. hepatica* and *S. mansoni*. First, Rosche and colleagues investigated the efficacy and tolerance of TSO in MS patients. The outcome parameters fulfil the criteria for clinical phase II trial in MS. It was found that there are reductions of lesions in MRI under therapy with TSO in MS patients after three months of therapy (31). Secondly, FhHDM-1, a peptide secreted by *F. hepatica*, improve relapsing-remitting immune-mediated demyelination in MS patient (15). Eventually, SEA from *S. mansoni* modulates intracellular pathway leading to escalation of IL-10 and Treg cells development. It is indicated that IL-10 producing capacity by B cells are diminished in patients with MS. On the other hand, B cells isolated from MS patients infected with SEA from *S. mansoni* may produce higher levels of IL-10 compared to MS patients uninfected to helminth. IL-10 production by B cells can be induced by stimulation with sugar molecules present in *S. mansoni* eggs (33). Ultimately, the increased production of IL-10 by B cells will be responsible in the suppression of inflammatory diseases (25).

Helminth Therapy For MS In The Future

The beneficial effects of helminth infections in reducing the induction of auto-immunity have been proven in some studies in EAE. These discoveries are a great starting point in developing the potential of helminths as MS therapy in humans. However, more studies related to the safety and efficacy need to be further investigated to be implemented in MS patients.

TSO, for instance, has a well-tolerated administration in RRMS patients (18) since it can be administered for 12 weeks without safety concerns (30) and no early major toxicity observed (18). However, based on Voldsgaard

and colleagues, it is indicated that neither clinical nor immunological outcome of TSO gives beneficial effects. This is probably due to the fact that patients in this study were exposed to other helminths (30).

Despite the beneficial effects of helminth infection as a therapy for autoimmune diseases, the drawbacks can be potentially harmful. There is a limitation from this type of therapy as helminths infection cannot specify the immune system and can potentially interfere the mode of actions in human's immune system. Thus, it can suppress the immune response that is required for immunity against other pathogens. On the other hands, helminths can also have an effect on the development of proper immune responses upon vaccination. Another safer and more effective alternative therapy is to deliver specific immune-modulatory molecules from helminth parasites. Thus, it will increase therapeutic effectiveness (15).

Conclusion

Helminths produce an exceptional potential to treat multiple sclerosis due to their ability to interfere with host's immune system. *Trichinella spiralis*, *Trichuris suis*, *Fasciola hepatica*, *Schistosoma japonicum* and *Schistosoma mansoni* are up to now to be promising helminths for reaching this purpose. Th2 responses, Treg cells and Breg cells are regulated by these helminths to give anti-inflammatory activity and at the end these mechanisms can be used as MS treatment. Although helminths therapy could be one of many options to treat MS, controversies still exist whether it is safe and effective for humans. Despite all beneficial activities generated by helminths for MS treatment, the safety and efficacy of this potential pharmaceutical application are crucial and need to be investigated prior to the implementation in humans. Furthermore, several factors like issues relating to *in vivo* stability and pharmacodynamics of helminth-derived molecules as well as delivery method to patients need to be studied in order to develop new therapeutic products.

Acknowledgement

The author wishes to extend high and respectful gratitude to Ruud Wilbers for help and

support throughout this writing. Many thanks also go to Arjen Schots for the earnest guidance.

References

1. Blezer EL, Deddens LH, Kooij G, Drexhage J, van der Pol SM, Reijerkerk A, de Vries HE. (2015). In vivo MR imaging of intercellular adhesion molecule-1 expression in an animal model of multiple sclerosis. *Contrast Media Mol Imaging*, 10(2), 111-121. doi:10.1002/cmml.1602
2. Michel L, Chesneau M, Manceau P, Genty A, Garcia A, Salou M, Brouard S. (2014). Unaltered regulatory B-cell frequency and function in patients with multiple sclerosis. *Clin Immunol*, 155(2), 198-208. doi:10.1016/j.clim.2014.09.011
3. van Strien ME, de Vries HE, Chrobok NL, Bol JG, Breve JJ, van der Pol SM, Van Dam AM. (2015). Tissue Transglutaminase contributes to experimental multiple sclerosis pathogenesis and clinical outcome by promoting macrophage migration. *Brain Behav Immun*, 50, 141-154. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26133787>. doi:10.1016/j.bbi.2015.06.023
4. Luhder F, Kebir H, Odoardi F, Litke T, Sonneck M, Alvarez JI, Prat A. (2017). Laquinimod enhances central nervous system barrier functions. *Neurobiol Dis*, 102, 60-69. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28235673>. doi:10.1016/j.nbd.2017.02.002
5. Laan LC, Williams AR, Stavenhagen K, Giera M, Kooij G, Vlasakov I, van Die I. (2017). The whipworm (*Trichuris suis*) secretes prostaglandin E2 to suppress proinflammatory properties in human dendritic cells. *FASEB J*, 31(2), 719-731. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27806992>. doi:10.1096/fj.201600841R
6. Bing SJ, Ha D, Ahn G, Cho J, Kim A, Park SK, Jee Y. (2015). Galectin isolated from parasite inhibits remission of experimental autoimmune encephalomyelitis by up-regulating autoantibody. *Clin Exp Immunol*, 180(3), 419-431. Retrieved from

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25619397>. doi:10.1111/cei.12594
7. Kooij G, Braster R, Koning JJ, Laan LC, van Vliet SJ, Los T, van Die I. (2015). Trichuris suis induces human non-classical patrolling monocytes via the mannose receptor and PKC: implications for multiple sclerosis. *Acta Neuropathol Commun*, 3, 45. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26205402>. doi:10.1186/s40478-015-0223-1
 8. Fleming JO. (2013). Helminth therapy and multiple sclerosis. *Int J Parasitol*, 43(3-4), 259-274. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23298637>. doi:10.1016/j.ijpara.2012.10.025
 9. Nasehi MM, Sahraian MA, Moghadasi AN, Ghofrani M, Ashtari F, Taghdiri MM, Moosazadeh M. (2017). Clinical and Epidemiological Aspects of Multiple Sclerosis in Children. *Iran J Child Neurol*, 11(2), 6.
 10. Choi SR, Howell OW, Carassiti D, Magliozzi R, Gveric D, Muraro PA, Reynolds R. (2012). Meningeal inflammation plays a role in the pathology of primary progressive multiple sclerosis. *Brain*, 135(Pt 10), 2925-2937. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22907116>. doi:10.1093/brain/aws189
 11. Herranz E, Gianni C, Louapre C, Treaba CA, Govindarajan ST, Ouellette R, Mainero C. (2016). Neuroinflammatory component of gray matter pathology in multiple sclerosis. *Ann Neurol*, 80(5), 776-790. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27686563>. doi:10.1002/ana.24791
 12. Dendrou CA, Fugger L, Friese MA. (2015). Immunopathology of multiple sclerosis. *Nat Rev Immunol*, 15(9), 545-558. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26250739>. doi:10.1038/nri3871
 13. Frischer JM, Bramow S, Dal-Bianco A, Lucchinetti CF, Rauschka H, Schmidbauer M, Lassmann H. (2009). The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains. *Brain*, 132(Pt 5), 1175-1189. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19339255>. doi:10.1093/brain/awp070
 14. Nasehi MM, Sahraian MA, Moghadasi AN, Ghofrani M, Ashtari F, Taghdiri MM, Moosazadeh M. (2017). Clinical and Epidemiological Aspects of Multiple Sclerosis in Children. *Iran J Child Neurol*, 11(2), 6.
 15. Lund ME, Greer J, Dixit A, Alvarado R, McCauley-Winter P, To J, Donnelly S. (2016). A parasite-derived 68-mer peptide ameliorates autoimmune disease in murine models of Type 1 diabetes and multiple sclerosis. *Sci Rep*, 6, 37789. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27883079>. doi:10.1038/srep37789
 16. Ramagopalan SV, Dyment DA, Cader MZ, Morrison KM, Disanto G, Morahan JM, Ebers GC. (2011). Rare variants in the CYP27B1 gene are associated with multiple sclerosis. *Ann Neurol*, 70(6), 881-886. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22190362>. doi:10.1002/ana.22678
 17. Eskandarieh S, Nedjat S, Abdollahpour I, Moghadasi AN, Azimi AR, Sahraian MA. (2017). Comparing epidemiology and baseline characteristic of multiple sclerosis and neuromyelitis optica: A case-control study. *Mult Scler Relat Disord*, 12, 39-43. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28283104>. doi:10.1016/j.msard.2017.01.004
 18. Fleming JO, Isaak A, Lee JE, Luzzio CC, Carrithers MD, Cook TD, Fabry Z. (2011). Probiotic helminth administration in relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase 1 study. *Mult Scler*, 17(6), 743-754. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21372112>. doi:10.1177/1352458511398054
 19. Sakaguchi S, Powrie F, Ransohoff RM. (2012). Re-establishing immunological self-tolerance in autoimmune disease. *Nat Med*, 18(1), 54-58. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22227673>. doi:10.1038/nm.2622
 20. Luo X, Miller SD, Shea LD. (2016). Immune Tolerance for Autoimmune Disease and Cell

- Transplantation. *Annu Rev Biomed Eng*, 18, 181-205. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26928211>. doi:10.1146/annurev-bioeng-110315-020137
21. Dzhagalov IL, Chen KG, Herzmark P, Robey EA. (2013). Elimination of self-reactive T cells in the thymus: a timeline for negative selection. *PLoS Biol*, 11(5), e1001566. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23700386>. doi:10.1371/journal.pbio.1001566
 22. Edwards SC, Higgins SC, Mills KH. (2015). Respiratory infection with a bacterial pathogen attenuates CNS autoimmunity through IL-10 induction. *Brain Behav Immun*, 50, 41-46. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26100487>. doi:10.1016/j.bbi.2015.06.009
 23. Rosche B, Wernecke KD, Ohlraun S, Dörr JM, Paul F. (2013). Trichuris suis ova in relapsing-remitting multiple sclerosis and clinically isolated syndrome (TRIOMS): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials journal*, 14(112), 6.
 24. Bashi T, Bizzaro G, Ben-Ami Shor D, Blank M, Shoenfeld Y. (2015). The mechanisms behind helminth's immunomodulation in autoimmunity. *Autoimmun Rev*, 14(2), 98-104. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25449677>. doi:10.1016/j.autrev.2014.10.004
 25. Benzel F, Erdur H, Kohler S, Frentsch M, Thiel A, Harms L, Rosche B. (2012). Immune monitoring of Trichuris suis egg therapy in multiple sclerosis patients. *J Helminthol*, 86(3), 339-347. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21838960>. doi:10.1017/S0022149X11000460
 26. Hesse D, Krakauer M, Lund H, Sondergaard HB, Limborg SJ, Sorensen PS, Sellebjerg F. (2011). Disease protection and interleukin-10 induction by endogenous interferon-beta in multiple sclerosis? *Eur J Neurol*, 18(2), 266-272. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20561040>. doi:10.1111/j.1468-1331.2010.03116.x
 27. Hoehlig K, Shen P, Lampropoulou V, Roch T, Malissen B, O'Connor R, Fillatreau S. (2012). Activation of CD4(+) Foxp3(+) regulatory T cells proceeds normally in the absence of B cells during EAE. *Eur J Immunol*, 42(5), 1164-1173. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22539290>. doi:10.1002/eji.201142242
 28. Gruden-Movsesijan A, Ilic N, Mostarica-Stojkovic M, Stosic-Grujicic S, Milic M, Sofronic-Milosavljevic L. (2010). Mechanisms of modulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by chronic Trichinella spiralis infection in Dark Agouti rats. *Parasite Immunol*, 32(6), 450-459. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20500676>. doi:10.1111/j.1365-3024.2010.01207.x
 29. Sofronic-Milosavljevic LJ, Radovic I, Ilic N, Majstorovic I, Cvetkovic J, Gruden-Movsesijan A. (2013). Application of dendritic cells stimulated with Trichinella spiralis excretory-secretory antigens alleviates experimental autoimmune encephalomyelitis. *Med Microbiol Immunol*, 202(3), 239-249. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23307236>. doi:10.1007/s00430-012-0286-6
 30. Bager P, Kapel C, Roepstorff A, Thamsborg S, Arnved J, Ronborg S, Melbye M. (2011). Symptoms after ingestion of pig whipworm Trichuris suis eggs in a randomized placebo-controlled double-blind clinical trial. *PLoS One*, 6(8), e22346. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21829616>. doi:10.1371/journal.pone.0022346
 31. Rosche B, Wernecke KD, Ohlraun S, Dörr JM, Paul F. (2013). Trichuris suis ova in relapsing-remitting multiple sclerosis and clinically isolated syndrome (TRIOMS): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials journal*, 14(112), 6.
 32. Zheng X, Hu X, Zhou G, Lu Z, Qiu W, Bao J, Dai Y. (2008). Soluble egg antigen from Schistosoma japonicum modulates the progression of chronic progressive experimental autoimmune

encephalomyelitis via Th2-shift response. *J Neuroimmunol*, 194(1-2), 107-114. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18207251>. doi:10.1016/j.jneuroim.2007.12.001

33. Correale J, Farez M. (2009). Helminth antigens modulate immune responses in cells from multiple sclerosis patients through TLR2-dependent mechanisms. *J Immunol*, 183(9), 5999-6012. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19812189>. doi:10.4049/jimmunol.0900897

Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Kulit Buah *Ananas comosus* (L) Merr. terhadap *Trichophyton mentagrophytes* dan *Malassezia furfur*

Melzi Octaviani¹, Delvian Fikrani¹, Emma Susanti¹

Artikel Penelitian

Abstract: The fruit rinds of pineapple is part of pineapple fruit (*Ananas comosus* (L) Merr.) which is usually not used. The phytochemical screening results from extract ethanol of skin pineapple, included flavonoids, alkaloids phenolics, steroids and saponins that can inhibit the growth of microorganisms. The purpose of this research is to know the antifungal activity of ethanol extract pineapple skin against *Trichophyton mentagrophytes* and *Malassezia furfur*. The study was performed using disc diffusion method with the variation concentrations of ethanol extract from the pineapple skin of 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125% and 1.5625% w/v, respectively and the positive control is nystatin and negative control is DMSO. The diameter of the inhibition zone formed on the ethanol extract test of the skin pineapple against *Trichophyton mentagrophytes* and *Malassezia furfur* at a concentration of 25% was 22.73 mm and 24.90 mm, respectively. This indicated that the extract etanol of skin pineapple has antifungal activity.

Keywords: *Ananas comosus* (L) Merr., antifungi, disc diffusion, fruit rinds

Abstrak: Kulit buah nanas merupakan bagian dari buah nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.) yang biasanya tidak dimanfaatkan. Hasil skrining fitokimia dari ekstrak etanol kulit nanas menunjukkan adanya kandungan flavonoid, alkaloid, fenolik, steroid dan saponin yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antijamur ekstrak etanol kulit nanas terhadap jamur *Trichophyton mentagrophytes* dan *Malassezia furfur*. Penelitian dilakukan dengan metode difusi cakram dengan variasi konsentrasi ekstrak etanol kulit nanas yaitu 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125% dan 1,5625% b/v dan kontrol positif yang digunakan adalah nistatin dan kontrol negatif DMSO. Diameter zona hambat yang terbentuk pada uji aktivitas antijamur ekstrak etanol kulit nanas terhadap jamur *Trichophyton mentagrophytes* dan *Malassezia furfur* pada konsentrasi 25% adalah 22,73 mm dan 24,90 mm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit nanas memiliki aktivitas antijamur terhadap jamur *Trichophyton mentagrophytes* dan *Malassezia furfur*

Kata kunci: *Ananas comosus* (L) Merr., antijamur, metode difusi, kulit buah.

¹ Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi
Riau, Pekanbaru 28289,
Riau, Indonesia

Korespondensi:

Melzi Octaviani
melzioctaviani@stifar-riau.ac.id

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang memiliki kelembaban tinggi sehingga memungkinkan untuk tumbuhnya berbagai mikroorganisme (1). Salah satu mikroorganisme yang dapat tumbuh dengan baik di Indonesia adalah jamur. Iklim tropis dengan kelembaban yang tinggi di Indonesia sangat mendukung pertumbuhan jamur. Untuk itu masalah mengenai penyakit infeksi yang disebabkan oleh jamur perlu mendapatkan perhatian yang khusus di Indonesia. Salah satu contoh penyakit infeksi yang disebabkan oleh jamur adalah kandidiasis. Penyakit ini ditemukan di seluruh dunia dan dapat menyerang semua umur, baik laki-laki maupun perempuan (2).

Penggunaan obat tradisional di Indonesia mengalami kemajuan yang sangat pesat. Obat-obatan tradisional kembali digunakan masyarakat sebagai salah satu alternatif pengobatan, disamping obat-obatan modern yang berkembang di pasaran (3). Obat tradisional yang berasal dari tumbuhan dan bahan-bahan alami murni memiliki efek samping, tingkat bahaya dan resiko yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan obat kimia (4,5).

Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai obat adalah nanas. Buah nanas mengandung nutrisi yang baik untuk kesehatan manusia seperti mineral, glukosa, fruktosa, sukrosa dan vitamin C. Buah nanas juga memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu fenolik dan flavonoid (6,7). Kulit buah nanas mempunyai kandungan zat aktif diantaranya adalah flavonoid, alkaloid, tanin dan steroid (8,9). Senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, dan terpenoid dapat bersifat sebagai antibakteri dan antijamur (10,11).

Daerah penghasil nanas yang ada di Provinsi Riau salah satunya adalah di Desa Kualu Nanas Kecamatan Tambang Kabupaten Kampar. Masyarakat di sana telah banyak membuat berbagai macam olahan nanas seperti dodol nanas, keripik nanas dan selai nanas. Di samping pemanfaatannya dalam berbagai produk olahan makanan, secara tradisional buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) juga dimanfaatkan oleh masyarakat dalam mengatasi penyakit kulit (gatal-gatal, eksim dan kudis) (12).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Yunus dkk (2020) yaitu pengujian aktivitas antijamur ekstrak etanol kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) terhadap pertumbuhan *Pityrosporum ovale* dan *Candida albicans* pada konsentrasi 5%, 10% dan 15% memiliki rata-rata diameter zona hambat berturut-turut terhadap *Pityrosporum ovale* sebesar 7,77 mm, 10,33 mm, 11,99 mm, sedangkan terhadap *Candida albicans* sebesar 7,99 mm, 10,14 mm, 11,55 mm. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) memiliki aktivitas terhadap pertumbuhan jamur *Pityrosporum ovale* dan *Candida albicans* (6). Namun untuk pengujian aktivitas antijamur ekstrak etanol kulit nanas terhadap jamur *Trichophyton mentagrophytes* dan *Malassezia furfur* belum pernah dilakukan.

Melihat potensi alam yang ada di Provinsi Riau tersebut dan belum ada penelitian yang sama, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai uji aktivitas antijamur ekstrak etanol kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) terhadap Jamur *Trichophyton mentagrophytes* dan *Malassezia furfur*.

Metode yang digunakan yakni difusi cakram karena memungkinkan ekstrak uji tersebar secara merata disekitar cakram dan mendapatkan data hasil pengukuran diameter hambatan yang dapat menunjukkan aktivitas antibakteri dari sampel uji. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat aktivitas antijamur ekstrak etanol kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) terhadap jamur *Trichophyton mentagrophytes* dan *Malassezia furfur* dengan menggunakan metoda difusi. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi di bidang farmasi dan dapat dimanfaatkan dalam pengembangan sediaan farmasi.

Metode

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (Shimadzu, Jepang), satu unit rotary evaporator (Buchi, Swiss), oven (Memmert, Jerman), autoklaf (Gea, Jerman), inkubator (Memmert, Jerman), vorteks (Asone, China), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu, Jepang), Laminar Air Flow (JSCB-900SL, Korea).

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit nanas kering sebanyak 400 g yang diperoleh dari 20 kg nanas yang diperoleh pada salah satu kebun nanas di Desa Kualu Nanas Kecamatan Tambang Kabupaten Kampar Provinsi Riau.

Identifikasi Sampel

Sampel diidentifikasi di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau, Pekanbaru.

Pembuatan Ekstrak Kulit Nanas

Kulit nanas dikupas tipis-tipis. Kemudian diiris halus, lalu dikeringanginkan dan dihaluskan menggunakan blender. Setelah itu, ditimbang berat serbuk simplisia kulit nanas. Ekstraksi sampel dilakukan dengan cara maserasi. Masing-masing sampel direndam di dalam wadah maserasi yakni botol gelap yang telah berisi pelarut alkohol 96% selama 5 hari sambil sesekali diaduk dan disimpan pada tempat yang terlindung dari cahaya. Kemudian lakukan penyaringan dan ampasnya dimaserasi kembali selama 5 hari. Dilakukan pengulangan dengan cara yang sama sebanyak tiga kali sehingga diperoleh maserat. Maserat yang diperoleh dari hasil maserasi dipekatkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental kulit nanas.

Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Nanas

Uji fitokimia ekstrak kulit nanas dilakukan dengan cara menambahkan 5 mL *aquadest* dan 5 mL kloroform pada ekstrak kental di dalam tabung reaksi, lalu dikocok kuat dan biarkan beberapa saat hingga terbentuk dua lapisan yakni lapisan air dan lapisan kloroform. Pisahkan kedua lapisan yang terbentuk. Lapisan air digunakan untuk uji senyawa saponin, fenolik, dan flavonoid, sedangkan lapisan kloroform digunakan untuk uji senyawa terpenoid dan steroid. Untuk uji senyawa alkaloid dilakukan dengan prosedur tersendiri.

Uji fenolik dilakukan dengan cara beberapa tetes lapisan air diambil dan dimasukkan ke dalam plat tetes yang bersih. Kemudian tambahkan 1-2 tetes larutan besi (III) klorida 1%. Apabila terbentuk warna biru, maka terdapat

senyawa fenolik. Uji flavonoid dilakukan dengan cara lapisan air diteteskan pada plat tetes 2-3 tetes, lalu ditambahkan 1-2 butir logam Mg dan beberapa tetes HCl pekat. Apabila terbentuk warna kuning-jingga hingga merah menandakan adanya senyawa flavonoid.

Uji saponin dilakukan dengan cara lapisan air dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu dikocok kuat selama beberapa saat. Jika terbentuk busa yang tidak segera menghilang (± 15 menit), maka menunjukkan adanya saponin.

Uji terpenoid dan steroid dilakukan dengan cara lapisan kloroform disaring melalui pipet tetes yang diberi kapas dan norit pada ujungnya. Ambil sebanyak 2-3 tetes hasil saringan dan biarkan mengering pada plat tetes. Setelah mengering tambahkan reagen Lieberman-Bouchard (2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat). Apabila terbentuk warna merah menandakan adanya terpenoid dan warna hijau atau biru menandakan adanya steroid.

Uji alkaloid dilakukan dengan cara sebanyak 5 mL ekstrak kental ditambahkan 5 mL kloroform dan 5 mL kloroform amoniak, aduk kemudian saring. Tambahkan 1-2 tetes pereaksi Mayer atau Dragendorf ke dalam tabung reaksi. Apabila terbentuk endapan putih dengan pereaksi Mayer atau warna jingga dengan pereaksi Dragendorf, maka positif adanya alkaloid (13).

Pengujian Aktivitas Antijamur

Media PDA dibuat sebanyak 500 ml dan disterilkan menggunakan autoklaf. Kemudian dilakukan peremajaan dan pembuatan suspensi jamur. Pembuatan suspensi jamur untuk metode difusi agar dilakukan dengan cara mengencerkan stok kultur biakan dalam NaCl fisiologis steril dalam tabung reaksi dan dihomogenkan dengan vorteks. Kekeruhan dari suspensi diukur dengan Spektrofotometri UV-Vis sehingga diperoleh suspensi dengan transmittan 90% pada panjang gelombang 530 nm (14).

Sebanyak 0,3 ml suspensi jamur uji dimasukkan ke dalam cawan Petri. Sebanyak 15 ml media PDA. Diaduk sampai homogen lalu dibiarkan memadat. Larutan uji dibuat dengan pengenceran bertingkat dalam beberapa konsentrasi yaitu 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125% dan 1,56% b/v dilarutkan dengan *Dimethyl*

Sulfoxide (DMSO). Media inokulum disiapkan. Masing-masing konsentrasi larutan uji ditetaskan sebanyak 10 µL pada masing-masing cakram. Kemudian cakram yang berisi larutan uji, kontrol positif dan kontrol negatif diletakkan diatas media inokulum dengan menggunakan pinset steril. Cawan Petri ditutup, lalu diinkubasi selama 72 jam pada suhu 30°C. Pertumbuhan jamur diamati dan diukur diameter hambatan yang terbentuk dengan jangka sorong. Sebagai kontrol negatif digunakan *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) dan sebagai kontrol positif digunakan nistatin 100 UI/disk. Diameter hambatan yang terbentuk diamati. Masing-masing percobaan dilakukan sebanyak tiga kali.

Analisis Data

Data hasil uji aktivitas antijamur dapat dilihat dengan mengukur diameter zona bening pada masing-masing konsentrasi, dan dihitung rata-rata diameter hambatannya. Data yang telah didapat disajikan dalam bentuk tabel dan gambar, kemudian dianalisis secara deskriptif.

Hasil dan Diskusi

Ekstraksi Kulit Nanas

Sampel yang digunakan adalah kulit nanas sebanyak 2,75 kg. Kemudian dilakukan pengeringan dan didapatkan simplisia kering sebanyak 400 g. Hasil ekstraksi simplisia kulit nanas diperoleh ekstrak kental etanol kulit nanas sebanyak 44,794 g dengan % rendemen 11,18 %.

Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Nanas

Hasil uji fitokimia dari ekstrak kulit nanas dapat dilihat pada **Tabel 1**. Hasil pengujian menunjukkan ekstrak etanol kulit nanas positif mengandung metabolit sekunder berupa fenolik, flavonoid, steroid, saponin dan alkaloid.

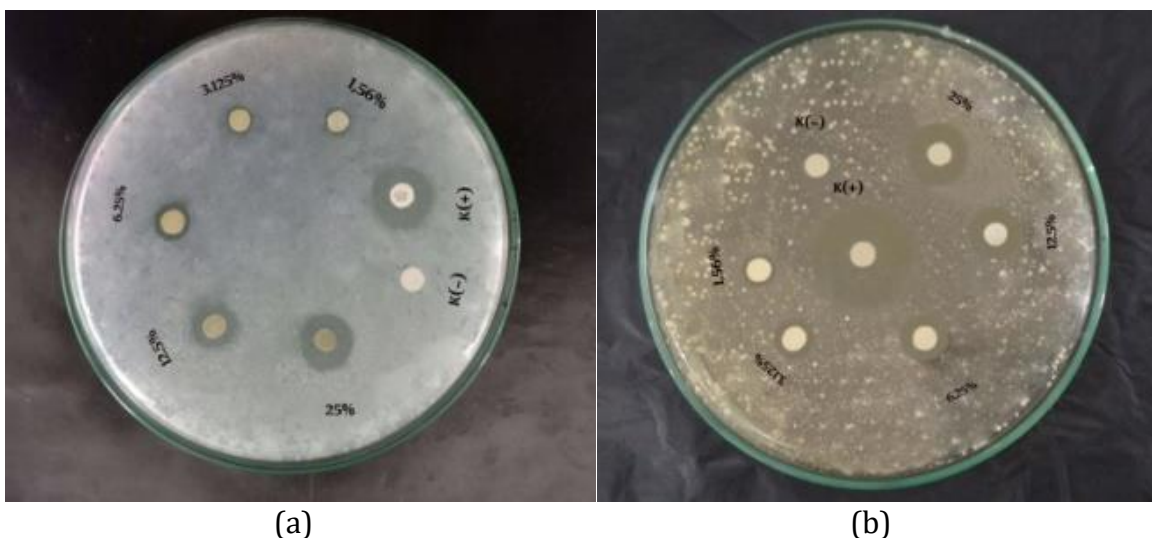
Uji Aktivitas Antijamur

Pengujian aktivitas antijamur ekstrak etanol dari kulit nanas dibuat dengan konsentrasi 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125% dan 1,5625%. Pemilihan variasi konsentrasi tersebut agar didapat konsentrasi sampel uji yang masing-masing memberikan daya hambat berbeda bila dilihat secara visual.

Aktivitas antijamur dari ekstrak etanol kulit nanas dapat dilihat dari terbentuknya daerah hamabatan di sekeliling kertas cakram yang telah ditetesi sampel uji (**Gambar 1**). Uji aktivitas antijamur terhadap ekstrak etanol kulit nanas terhadap jamur *Tricophyton mentagrophytes* pada konsentrasi 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125% dan 1,5625% diperoleh hasil rata-rata diameter zona hambat secara berturut-turut adalah 22,73 mm; 17,38 mm; 11,84 mm; 9,48 mm dan 8,56 mm. Rata-rata diameter daerah hambat ekstrak etanol kulit nanas terhadap jamur *Malassezia furfur* secara berturut-turut berdasarkan konsentrasi adalah 24,16 mm; 20,89 mm; 16,96 mm; 11,12 mm dan 8,18 mm.

Tabel 1. Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Nanas

Metabolit Sekunder	Reagen	Pengamatan	Hasil
Fenolik	FeCl ₃	Terbentuk warna biru kehijauan	+
Flavonoid	Mg+HCl	Terbentuk warna Kuning Jingga	+
Steroid	Lieberman Bouchard	Terbentuk warna hijau/biru	+
Saponin	Air	Terbentuk busa yang stabil	+
Alkaloid	Mayer	Keruh berwarna putih	+
Terpenoid	Lieberman Bouchard	Tidak terbentuk warna merah	-



Gambar 1. Diameter hambat ekstrak etanol kulit nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.) terhadap jamur (a) *Trichophyton mentagrophytes* dan (b) *Malassezia furfur*

Tabel 2. Hasil Pengukuran Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr.) terhadap Jamur *Trichophyton mentagrophytes* dan *Malassezia furfur*

Jamur Uji	Perlakuan	Diameter Daerah Hambat (mm)			Rata-Rata Diameter Daerah Hambat (mm)±SD
		I	II	III	
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	K (-)	-	-	-	-
	K(+)	24,72	24,54	24,36	24,54±0,18
	25%	22,85	22,73	22,61	22,73±0,12
	12,5%	17,49	17,09	17,55	17,38±0,25
	6,25%	11,98	11,67	11,86	11,84±0,16
	3,125%	9,72	9,08	9,64	9,48±0,35
	1,56%	8,70	8,21	8,78	8,56±0,31
<i>Malassezia furfur</i>	K (-)	-	-	-	-
	K (+)	28,87	28,56	29,79	29,07±0,64
	25%	24,44	24,13	23,91	24,90±0,27
	12,5%	20,78	20,55	21,35	20,89±0,41
	6,25%	16,52	17,53	16,82	16,96±0,52
	3,125%	11,37	11,11	10,89	11,12±0,24
	1,56%	8,47	8,18	7,88	8,18±0,30

Keterangan : - = Tidak ada aktivitas; K(-) = Kontrol negatif; K(+) = Kontrol positif

Hasil pengukuran diameter daerah hambatan yang terbentuk dari pengujian aktivitas antijamur ekstrak etanol kulit buah nanas dapat dilihat pada **Tabel 2.**

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak kulit nanas dalam menghambat jamur yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram yang berisi ekstrak uji. Zona bening menandakan bahwa ekstrak memiliki aktivitas antijamur. Hasil

pengukuran pada pengujian dari ekstrak etanol kulit nanas sebagai antijamur terhadap 2 jamur uji yang diperoleh dari hasil perhitungan diameter rata-rata zona hambat.

Aktivitas antijamur dari ekstrak etanol kulit buah nanas disebabkan karena kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada sampel uji. Hasil pengujian skrining fitokimia yang telah dilakukan, didapatkan bahwa ekstrak etanol kulit nanas memiliki kandungan senyawa berupa

fenolik, flavonoid, steroid, saponin dan alkaloid. Senyawa metabolit sekunder tersebut memiliki aktivitas sebagai antijamur (6,15,16). Senyawa alkaloid bekerja sebagai penghambat biosintesa asam nukleat pada jamur (17). Flavonoid mempunyai kemampuan untuk mengganggu pembentukan pseudohifa selama proses perkembangan jamur. Selain itu, protein ekstraseluler akan membentuk kompleks dengan flavonoid sehingga terlarut, dan dapat juga bereaksi dengan dinding sel sehingga terjadi denaturasi protein yang menyebabkan kebocoran (18). Senyawa aktif yang juga berperan menghambat aktivitas antijamur adalah saponin. Senyawa aktif ini dapat menyebabkan gangguan permeabilitas membran sebagai akibat dari terbentuknya kompleks dengan sterol (19).

Berdasarkan diameter hambat yang diperoleh bahwa ekstrak kulit nanas memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan jamur *Tricophyton mentagrophytes* dan *Malassezia furfur*.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit nanas dengan konsentrasi 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,5625% memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan jamur *Tricophyton mentagrophytes* dan *Malassezia furfur*. Diameter zona hambat yang terbentuk pada uji aktivitas antijamur ekstrak etanol kulit nanas terhadap jamur *Tricophyton mentagrophytes* dan *Malassezia furfur* pada konsentrasi 25% adalah 22,73 mm dan 24,90 mm.

Referensi

1. de Azevedo JL, Quecine MC. Diversity and benefits of microorganisms from the tropics. Diversity and Benefits of Microorganisms from the Tropics. 2017.
2. Brown GD, Denning DW, Levitz SM. Tackling human fungal infections. Vol. 336, Science. 2012.
3. Kementrian Pertanian. Tanaman obat warisan tradisi nusantara untuk kesejahteraan rakyat. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. 2019.
4. Katno. Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Vol. 6, Trends in Cognitive Sciences. 2008.
5. Mindarti S, Bebet N. Tanaman obat keluarga (TOGA). Vols. 1–24, Isbn: 978-979-3595-49-8. 2015.
6. Yusuf M, Alyidrus R, Irianti W, Farid N. Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Kulit Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) Terhadap Pertumbuhan *Pityrosporum ovale* dan *Candida albicans* Penyebab Ketombe. Media Kesehatan Politek Kesehatan Makassar. 2020;15(2).
7. Gunawan HC, Yusliana Y, Daeli PJ, Sarwendah S, Chiuman L. Uji Antibakteri Air Perasan Daging Buah Nanas (*Ananas Comosus* (L) Merr) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. J Kedokt dan Kesehat. 2019;15(2).
8. Budiani YA, Satari MH, Jasrin TA. Daya hambat ekstrak metanol nanas, belimbing wuluh, dan kemangi terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175 I. J Kedokt Gigi Univ Padjadjaran. 2017;29(2).
9. Rini ARS. Pemanfaatan Ekstrak Kulit Buah Nanas (*Ananas comosus* L. Merr.) untuk Sediaan Gel Hand Sanitizer sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Skripsi, Universitas Negeri Semarang. 2016.
10. Nugraha AC, Prasetya AT, Mursiti S. Isolasi, Identifikasi, Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid Sebagai Antibakteri Dari Daun Mangga. Indones J Chem Sci. 2017;6(2).
11. Ningsih DR. Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera indica* L.) Sebagai Antijamur Terhadap Jamur *Candida albicans* dan Identifikasi Golongan Senyawanya. J Kim Ris. 2017;2(1).
12. Badrunasar A dan HSB. Tumbuhan Liar Berkhasiat Obat. Vol. ISBN 978-6, Book Tumbuhan Liar Berkhasiat Obat. 2017.
13. J.B Harbone. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Penerbit ITB, Bandung. 1996;2.
14. Depkes RI. Farmakope Indonesia edisi IV.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995.
15. Christoper W, Natalia D, Rahmayanti S. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. Ex K. Heyne.) terhadap *Trichophyton mentagrophytes* secara In Vitro. J Kesehat Andalas. 2018;6(3).
 16. Octaviani M, Fadila F. Uji Aktivitas Antijamur Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Jamur *Candida albicans*. J Katalisator. 2018;3(2).
 17. Khan H, Mubarak MS, Amin S. Antifungal Potential of Alkaloids As An Emerging Therapeutic Target. Curr Drug Targets. 2016;18(16).
 18. Aboody MS Al, Mickymaray S. Anti-fungal efficacy and mechanisms of flavonoids. Vol. 9, Antibiotics. 2020.
 19. Faizal A, Geelen D. Saponins and their role in biological processes in plants. Vol. 12, Phytochemistry Reviews. 2013.

Metronidazole Tablet Menyebabkan Perubahan Warna Urine: Laporan Kasus

Sherly Tandi Arrang¹

Artikel Review

Abstract: Cases of urine discoloration after the use of metronidazole are still rarely found or reported. A female patient (38 years old) experienced vaginal discharge and was given metronidazole therapy. Urine color of the patient was to be reddish in few hours after taking metronidazole tablet. Correlation between metronidazole tablet and urine discoloration was review by Naranjo scale. Based on the assessment of adverse drug reaction probability scale (Naranjo Scale) that consists of 10 questions, total score for this report was seven (7) or probable, which means that metronidazole associated with reddish urine. Urine discoloration to be darken or reddish due to pigmentation by metabolites of metronidazole. Metronidazole associated dark urine/reddish urine and urine color -return to normal after the medicine is stopped.

Keywords: metronidazole, urine discoloration, adverse drug reaction

¹ Departement of Pharmacy,
School of Medicine and
Health Sciences, Atma Jaya
Catholic University of
Indonesia, Jakarta, Indonesia

Abstrak: Kasus perubahan warna urine setelah penggunaan metronidazole masih jarang ditemukan atau dilaporkan. Seorang pasien wanita usia 38 tahun mengalami keputihan dan diberikan terapi metronidazole. Pasien mengalami efek samping obat berupa warna urin menjadi gelap kemudian merah beberapa jam setelah penggunaan metronidazole tablet. Hubungan antara tablet metronidazole dan perubahan warna urin dinilai menggunakan Skala Naranjo. Berdasarkan dari penilaian efek samping obat menggunakan instrumen *Naranjo Scale*, dari 10 pertanyaan didapatkan total skor tujuh (7), yang artinya metronidazole kemungkinan penyebab warna urin menjadi lebih gelap/merah. Perubahan warna urin menjadi gelap atau kemerahan disebabkan oleh pigmentasi dari metabolit metronidazole. Metronidazole dikaitkan dengan warna urin menjadi gelap/kemerahan, dan warna urin kembali normal setelah obat dihentikan.

Korespondensi:

Sherly Tandi Arrang
sherly.tandiarrang@atmajaya.
ac.id

Kata kunci: metronidazole, perubahan warna urin, reaksi obat yang merugikan

Pendahuluan

Keputihan atau *vaginal discharge*, dapat menjadi sebuah kondisi penyakit atau infeksi vagina bila ditandai dengan cairan yang keluar dari vagina berwarna putih, kuning atau kehijauan, disertai dengan rasa gatal, perih, dan bau amis. Ada tiga (3) jenis penyakit yang dikaitkan dengan keputihan yaitu *Bacterial Vaginosis* (BV), *Trichomoniasis* dan *Vulvovaginal Candidiasis* (VVC). *Bacterial vaginosis* adalah kondisi perubahan flora normal vagina ditandai dengan pertumbuhan bakteri anaerob seperti *Prevotella sp.*, *Mobiluncus sp.*, *Gonorrhea vaginalis*, *Mycoplasma* dan beberapa bakteri anaerob lainnya. Kuman penyebab utama *vulvovaginal candidiasis* (VVC) adalah jamur *Candida albicans*. Spesies jamur penyebab lainnya yaitu *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* dan *Candida krusei*. Gejala khas dari VVC adalah pruritus, rasa sakit pada vagina, *dyspareunia*, *external dysuria*, dan cairan vagina yang abnormal. Untuk *Trichomoniasis* disebabkan oleh *Trichomonas vaginalis* (1-3).

Beberapa rekomendasi terapi untuk *Bacterial Vaginosis* adalah metronidazole oral 2 kali 500 mg selama 7 hari atau metronidazole gel 0,75% secara intravagina, sekali sehari selama 5 hari atau clindamicin cream 2% intravaginal selama 7 hari. Alternatif terapi adalah tinidazole 2 g oral sekali sehari selama 2 hari atau tinidazole 1 g oral sekali sehari selama 5 hari atau clindamicin 300 mg oral, dua kali sehari selama 7 hari atau clindamicin ovula 100 mg intravaginal sekali sehari selama 3 hari (3).

Terapi untuk keputihan yang disebabkan oleh *Trichomonas vaginalis* adalah metronidazole 2 g oral dosis tunggal atau tinidazole 2 g oral dosis tunggal. Alternatif terapi lainnya adalah metronidazole 500 mg oral dua kali sehari selama 7 hari (3). Terapi untuk *Vulvovaginal Candidiasis* bervariasi tergantung tingkat keparahannya. Jenis obat yang dapat diberikan adalah bentuk sediaan intravaginal seperti Clotrimazole 1% 5 g intravaginal selama 7-14 hari; Clotrimazole 2% cream 5 g intravagina selama 3 hari; Miconazole 2% cream 5 g intravagina selama 7 hari; Miconazole 4% cream 5 g intravagina selama 3 hari; Miconazole 100 mg suppositoria sekali sehari selama 7 hari; dan

beberapa pilihan lainnya, serta obat oral yaitu Fluconazole 150 mg dosis tunggal (3).

Metronidazole adalah salah satu jenis antibiotika yang memiliki aktivitas dalam melawan bakteri anaerob dan protozoa. Dosis dewasa untuk mengobati *bacterial vaginosis* dan *Trichomoniasis* secara oral adalah 400-500 mg dua kali sehari selama 5 – 7 hari, atau 2 g dosis tunggal; bila diberikan dalam bentuk intravaginal adalah 1 kali sehari selama 5 hari (3).

Farmakokinetika dari Metronidazole yaitu absorpsi dengan baik secara oral, waktu puncak secara oral 1-2 jam (sediaan *immediate release*) terdistribusi ke air liur (saliva), air susu, menembus sawar arah otak dan plasenta, ikatan protein <20%, metabolisme di hati (30-60%), waktu paruh pada neonates 25-75 jam, dewasa 6-8 jam, pada orang dengan gangguan hati atau ginjal, waktu paruh memanjang 21 jam, ekskresi melalui urin (20-40%) dan feses (6-15%) (4).

Efek samping penggunaan metronidazole dibagi menjadi (5):

- 1) *Common* atau *very common* (>1-10%): mulut kering, mialgia, mual, muntah, rasa metalik di mulut, untuk penggunaan vaginal berupa rasa tidak nyaman pada pelvis, vulvovaginal candidiasis.
- 2) *Uncommon* (0,1%-1%): asthenia, sakit kepala, leucopenia (penggunaan jangka panjang), untuk penggunaan vaginal berupa siklus menstruasi terganggu, perdarahan pervagina.
- 3) *Rare* atau *very rare*: (<0,01-0,1%): agranulositosis, angiodema, nafsu makan menurun, ataxia, *confusion*, diare, lemas, penurunan kesadaran/konsetrasi, ensefalopati, nyeri epigastrik, kejang dan neuropati perifer (penggunaan jangka panjang), halusinasi, gangguan hati, meningitis, mucositis, neutropenia, neuropati optik, pankreatitis, pancytopenia, gangguan psikotik, reaksi pada kulit (kemerahan), trombositopenia, urin berwarna gelap, gangguan penglihatan.
- 4) *Frequency not known*: menekan mood, gangguan pendengaran

Laporan Kasus

Sebuah laporan kasus dari seorang pasien wanita (Ny. S), berusia 38 tahun, mengalami keputihan. Laporan ini disampaikan oleh pasien ke farmasi melalui *whatsapp*. Laporan kasus adalah sebagai berikut dokter memberikan terapi Diflucan (Fluconazole) 1x150 mg sekali dan metronidazole (merek "F") 3x500 mg selama 5 hari kepada Ny.S . Pasien tidak memiliki riwayat penyakit kronik dan tidak sedang mengkonsumsi

obat rutin. Beberapa jam setelah dosis pertama dari minum Metronidazole (kurang lebih 2 jam), urine pasien berwarna coklat lalu kemudian merah (5-6 jam kemudian) (**Gambar 1**). Pasien lalu menghentikan obat metronidazole, sekitar 18 jam kemudian warna urin kembali normal (**Gambar 2**). Efek lain yang dirasakan pasien adalah merasa tidak enak badan (meriang, lemas) sedikit mual, dan ada keinginan untuk sering buang air kecil (poliuria).



Gambar 1. Warna Urin setelah Mengonsumsi Metronidazole



Gambar 2. Warna urin setelah obat dihentikan

Hasil dan Diskusi

Pasien diberikan metronidazole dan 2 jam setelah mengonsumsi warna urin berubah menjadi lebih gelap, lalu 5 jam kemudian berwarna merah. Berdasarkan dari penilaian efek samping obat dengan menggunakan Naranjo

Scale diperoleh skor yaitu 7 (Tabel 1) yang artinya adalah "mungkin/*probable*" obat tersebut penyebab terjadinya reaksi obat yang tidak diharapkan, ada beberapa pertanyaan yang tidak bisa dijawab pada *Naranjo scale* karena tidak dapat dilakukan. Dari beberapa laporan kasus

dan literatur, metronidazole dapat menyebabkan perubahan warna urin. Leaflet sediaan metronidazole (merek "F") menyatakan efek samping yang dapat terjadi pada sistem urinarius setelah penggunaan metronidazole adalah warna urine menjadi lebih gelap, dan dilaporkan angka kejadian ini dapat terjadi pada satu (1) pasien dari 100.000 pasien yang menggunakan metronidazole. (6) Perubahan warna urin menjadi gelap karena adanya kemungkinan pigmentasi yang disebabkan oleh metabolit metronidazole (6,7) Laporan kasus serupa, dilaporkan kejadian hematuria (*cystitis related hematuria*) pada pasien ICU (laki-laki, usia 24 tahun) setelah penggunaan metronidazole intravena (IV) pada perawatan hari ke 7. Berdasarkan hasil pemeriksaan mikroskopik urin pasien terdapat sel darah merah. Efek ini dicurigai karena penggunaan metronidazole (efek samping yang jarang terjadi), dan sehari setelah metronidazole dihentikan warna urin pasien normal. (7) Laporan kasus lainnya pada pasien laki-laki usia 52 tahun yang dirawat karena penyakit sepsis akibat *Clostridium difficile*, pasien diberikan terapi metronidazole intravena, didapatkan warna pasien gelap (*cola-colored urine*), dan 34 jam setelah obat tidak sengaja dihentikan, warna urin kembali normal. Ketika obat dimulai kembali, dalam 8 jam kemudian warna urin pasien kembali menjadi gelap. Terapi metronidazole pada pasien ini tetap dilanjutkan sampai pasien keluar rumah sakit, dan tidak didapatkan efek yang berbahaya akibat penggunaan metronidazole. (8) Beberapa kasus serupa diatas menjadi penguat bahwa kasus perubahan warna urin menjadi merah yang dialami Ny S disebabkan oleh metronidazole tablet.

Kesimpulan

Penggunaan metronidazole oral dan intravena dapat menimbulkan efek samping berupa warna urin menjadi gelap atau merah (*cystitis related hematuria*), dan warna urin dapat kembali normal setelah obat dihentikan.

Referensi

1. Gonçalves B, Ferreira C, Alves CT, Henriques M, Azeredo J, Silva S. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors. *Critical Reviews in Microbiology*. 2016 Nov;42(6):905–27.
2. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2016 Feb 15;62(4):e1-50.
3. Workowski KA, Bolan GA. Sexually Transmitted Disease Treatment Guidelines [Internet]. MMWR Recomm Rep; 2015. Available from: <https://www.cdc.gov/mmwr/pdf/rr/rr6403.pdf>
4. LC Armstrong LL, Goldman MP, Lance LL. Drug Information Handbook, 17 th edition. 17 th. Hudson: Lexi-Comp's Inc; 2008.
5. Joint Formulary Committee. British National Formulary. Vol. 76. Royal Pharmaceutical Society; 2018.
6. Pfizer Lab. Metronidazole, Flagyl {package insert} [Internet]. Pfizer Lab; 2020. Available from: <http://labeling.pfizer.com/showlabeling.aspx?id=570>
7. Pm V, Rao S. Rare Side Effects of Metronidazole. *SAJ Case Reports*. 2017 Mar;4(1):1–3.
8. Revollo JY, Lowder JC, Pierce AS, Twilla JD. Urine Discoloration Associated With Metronidazole: A Rare Occurrence. *Journal of Pharmacy Technology*. 2014 Apr;30(2):54–6

Antibacterial and Antiviral Activity of Eucalyptus oil: A Systematic Review

Pretty Falena Atmanda Kambira^{1*}, Merry Liliana¹,
Laurentine Belinda Arfenda¹, Sherleen Marcella¹

Artikel Review

Abstract: *Eucalyptus sp.* is a family member of Myrtaceae, and its oil has been used commercially in the food industry, cosmetics, and pharmaceutical preparation. The fame of Eucalyptus oil rose during the COVID-19 pandemic because several claims have antiviral activity against the coronavirus. Nevertheless, this claim is not scientifically proven and could lead to misinformation among the public. Eucalyptus oil is known to have antibacterial activity against gram-positive and gram-negative bacteria. However, to what extent its effectiveness is has yet to be discovered. Therefore, this study aims to assess eucalyptus oil's antibacterial and antiviral activity using the Cochrane systematic review. The studies included in the systematic review were retrieved from the PubMed and Science Direct databases. The search query was ("Eucalyptus oil" OR "Eucalyptol") AND ("Antibacterial" OR "Antiviral" OR "MIC"). There are 114 articles identified from the search strategies, and additional 4 articles were found from citation research. After the removal of duplication, 83 articles remained. However, 61 articles were excluded because they did not report the antimicrobial activity of eucalyptus oil. Twenty-two articles were screened for full-text, and 61 were excluded because it does not meet the inclusion criteria. Finally, 16 articles were included in this systematic review. Eucalyptus oil has an antibacterial and antiviral activity that depends on its chemical composition and microbial strains. Therefore, make it a prominent candidate as an antimicrobial and disinfectant compound. However, future clinical study about its mechanism of action is needed.

Keywords: *eucalyptus oil, eucalyptol, antibacterial, antiviral, MIC.*

Abstrak: *Eucalyptus sp.* adalah anggota keluarga Myrtaceae, dan minyaknya telah digunakan secara komersial dalam industri makanan, kosmetik, dan sediaan farmasi. Ketenaran minyak kayu putih naik selama pandemi COVID-19 karena beberapa klaim memiliki aktivitas antivirus terhadap virus corona. Namun demikian, klaim ini tidak terbukti secara ilmiah dan dapat menimbulkan misinformasi kepada publik. Minyak kayu putih diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Namun, sejauh mana efektivitasnya hampir tidak diketahui. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menilai aktivitas antibakteri dan antivirus minyak kayu putih menggunakan tinjauan sistematis Cochrane. Artikel yang diikutkan dalam tinjauan pustaka sistematis berasal dari database PubMed dan Science Direct. Kata kunci pencarian yang digunakan adalah ("Eucalyptus oil" OR "Eucalyptol") AND ("Antibacterial" OR "Antiviral" OR "MIC"). Strategi pencarian menemukan 114 artikel, dan tambahan empat artikel ditemukan dari penelusuran sitasi. Setelah menghilangkan artikel duplikasi tersisa 83 artikel. Namun, 61 artikel tidak diikutkan dalam tinjauan sistematis karena tidak melaporkan aktivitas antimikroba dari minyak kayu putih. Terdapat 22 artikel yang disaring melalui pembacaan teks lengkap, namun 61 artikel dikeluarkan dari studi karena tidak memenuhi kriteria inklusi. Akhirnya, hanya 16 artikel yang diikutkan dalam tinjauan pustaka sistematik ini. Minyak kayu putih memiliki aktivitas antibakteri dan antivirus yang bergantung pada komposisi kimia dan strain mikroba. Sehingga menjadikannya bahan alam yang dapat digunakan sebagai senyawa antimikroba dan desinfektan. Namun, diperlukan studi klinis untuk mengetahui mekanisme kerja terhadap aktivitas farmakologi ini.

¹ Department of Pharmacy,
School of Medicine and
Health Sciences, Atma Jaya
Catholic University of
Indonesia.

Korespondensi:

Pretty Falena Atmanda
Kambira
pretty.falena@atmajaya.ac.id

Kata kunci: minyak kayu putih, eucalyptol, antibakteri, antivirus, MIC.

Introduction

Eucalyptus oil is a clear liquid with a distinctive aroma depending on its origin. It is colorless when refined but is usually slightly yellow when first distilled from the leaves (1). The eucalyptus plant was traditionally used as an antiseptic to treat respiratory tract infections. It can also be used for relaxation, weight loss, treating infections from fungi, and diabetes mellitus in traditional medicine (2,3). Eucalyptus oil is extracted from the eucalyptus plant with various process stages. Eucalyptus comes from the Myrtaceae family, has about 700 species, and among them, about 300 species of *Eucalyptus* sp. have volatile oils. This plant genus originates in Australia and has spread worldwide, including Indonesia. This spreading is possible because the plant is adaptable, easy to cultivate, and has relatively fast growth. Also, Indonesia is a suitable place for the growth of this plant (2,3). Eucalyptus oil contains 1,8-cineole, (R)-4-methyl-2-pentyl acetate, 3-methylbutanal, α -pinene, β -pinene, Sabinene, Myrcene, and many more. 1,8-cineole is the most abundant constituent in eucalyptus oil (4).

Although arsphenamine was the first antibiotic found, penicillin started the golden age of natural product antibiotic discovery. However, nowadays, there is an antimicrobial resistance crisis due to pathogens' evolution toward drug resistance, such as MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*). Some antimicrobial resistance (AMR) infections currently are not effectively treated. Therefore, it is time to discover new microbial candidates from Natural products (NPs) because these compounds are rich in their chemical diversity and effectiveness as antibiotics (5,6). This search should be continuously conducted because viruses and bacteria constantly develop and mutate. Also, there is a possibility that the antiviral and antibiotics commonly used will be less effective or even ineffective because of microbial resistance. Therefore, discovering an antimicrobial candidate effective against a resistant microbe is essential (7,8).

The fame of eucalyptus oil rose during the COVID-19 pandemic because several claims have antiviral activity against the coronavirus (9). Nevertheless, this claim is not scientifically

proven and could lead to misinformation among the public. Eucalyptus oil is known to have antibacterial activity against gram-positive and gram-negative bacteria (10). However, to what extent its effectiveness is hardly known. Therefore, this study aims to assess eucalyptus oil's antibacterial and antiviral activity using a systematic review with the Cochrane method

Materials and Methods

Research Design

This research uses the Cochrane systematic review method to study eucalyptus oil's antibacterial and antiviral activity.

Search Strategy and Selection Criteria

The studies included in the systematic review were retrieved from the Pubmed and Science Direct databases. The search query was ("Eucalyptus oil" OR "Eucalyptol") AND ("Antibacterial" OR "Antiviral" OR "MIC"). The study was conducted in December 2020.

The collected abstract was reviewed, and a study was considered eligible for inclusion if it contains eucalyptus oil MIC and details of the applied MIC methodologies. Selected MIC methodologies were microdilution (BMD) and agar diffusion.

Inclusion criteria: Essential oils extracted from *Eucalyptus* sp. The study contains the antibacterial study of these oils reported as MIC (Minimum Inhibitory Concentration) and inhibition zone. Meanwhile, there are no particular criteria for antiviral activity reports.

This study used no exclusion criteria. The included articles only need to meet the inclusion criteria.

Data extraction

After the title and abstract were screened, four authors independently assessed and analyzed the selected studies.

Data extracted from the identified studies were (1) the source of the eucalyptus oil used in the study; (2) the study design; (3) the experimental methods used for determining the antibacterial and antiviral activity of the oil; (4) the microbial strains used for antibacterial and antiviral determination; (5) results of the

antibacterial and antivirus activity; (6) country where the study was conducted and; (7) the year when the study was reported.

Results and Discussion

There are 114 articles identified from the search strategies, and additional 4 articles were found from citation research. After duplication, 83 articles remained. However, 61 articles were excluded because they did not report the antimicrobial activity of eucalyptus oil. Twenty-two articles were screened for full-text, and 61 were excluded because it does not meet inclusion criteria. Finally, 16 articles were included in this systematic review (Error! Reference source not found.).

Eucalyptus oils' source

The source of eucalyptus oil comes from various species. There are 15 species of

Eucalyptus sp. included in this study; *E. globulus* oil was the most studied (Error! Reference source not found.). However, two articles do not mention essential oil sources (11,12). Oils' source is essential because each *Eucalyptus* sp. species will produce oil with a different yield and chemical composition. Thus, it will produce significantly different antimicrobial activity. Moreover, other factors can affect the oil's characteristics, such as the sample's age when harvested, the harvest date (season), chemotype, plant organ, geographical origin, and extraction method (13–15).

Eucalyptus oils' chemical properties

Eucalyptus oil has been used extensively in traditional medicine and written in some pharmacopeia. Moreover, British pharmacopeia, European, and Chinese pharmacopeia stated that Eucalyptus oil for medicinal purposes must contain 1,8-cineole by not less than 70% (14)

Table 1. Source of Eucalyptus oil

Source of Essential Oil	Included in articles
<i>E. bicostata</i>	1
<i>E. camaldulensis</i>	3
<i>E. cinerea</i>	1
<i>E. citriodora</i>	3
<i>E. globulus</i>	9
<i>E. largiflorence</i>	1
<i>E. lehmannii</i>	1
<i>E. leucoxydon</i>	1
<i>E. maidenii</i>	1
<i>E. malliadora</i>	1
<i>E. polycarpa</i>	1
<i>E. radiata</i>	1
<i>E. smithii</i>	1
<i>E. staigeriana</i>	1
Eucalyptus oil commercial	2

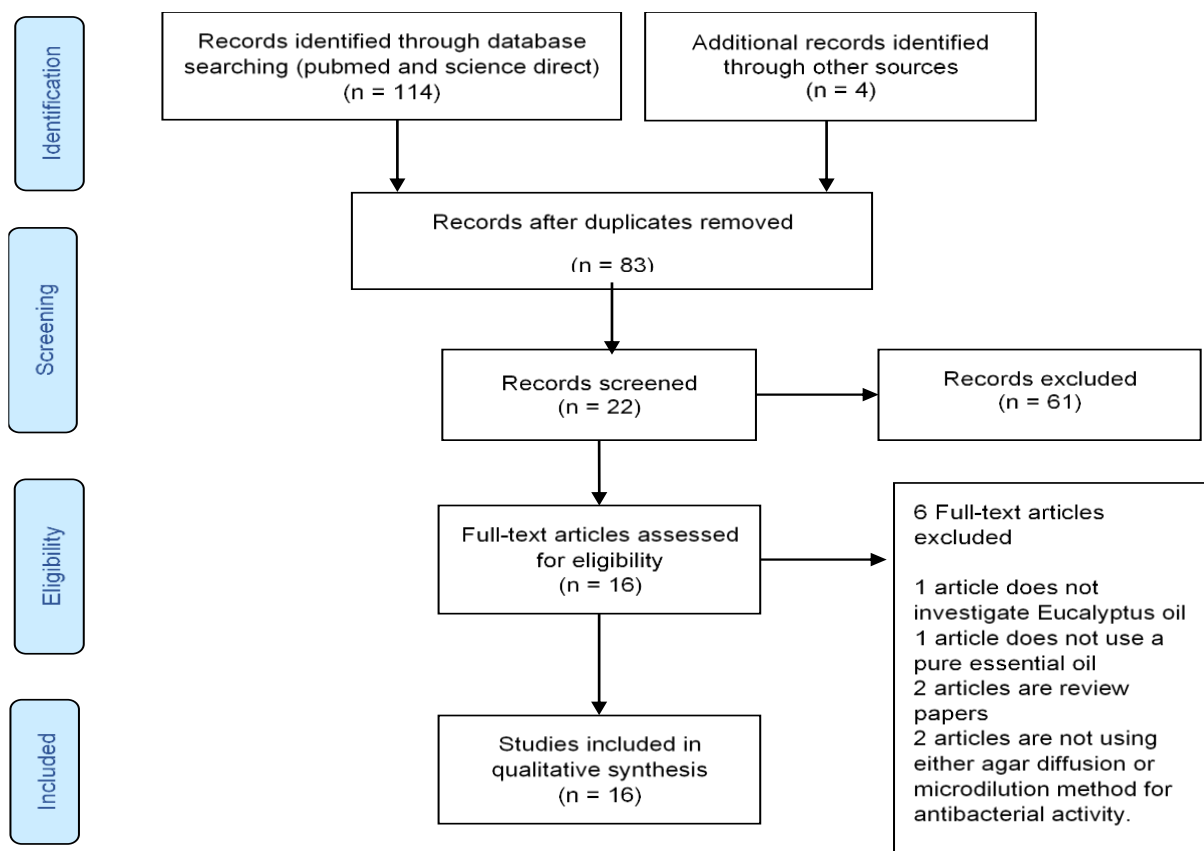


Figure 1. Results of literature research. The literature search was conducted using Cochrane method and the result is displayed in the PRISMA diagram. The search resulted 118 articles, but only 16 articles included in the study.

Although 1,8-cineole, also known as eucalyptol, is a chemical marker, no evidence found in this study shows that it is significantly correlated with eucalyptus oils' antimicrobial activity. Furthermore, antimicrobial activity may arise because of the synergic effect among major and minor chemical components. So, the presence of another compound should be considered.

Eucalyptus oil's chemical profile is reported in eleven studies (13–23). The oils' composition varies among species and also among their origin. A study reported that *E. citriodora* oil containing a low amount of eucalyptol and a high amount of citronellal has the most antibacterial activity among the two species tested (17). Aromadendrene was reported that has a more significant contribution to oils' antimicrobial activity than 1,8-cineole (14). Different oils' compositions will yield different antimicrobial activities. Since essential oils' comprises of

several volatile compounds, and also many factors affect oils' composition.

Bacterial strains used in the test

In the study, there are 45 bacterial strains included in this study. MRSA was the most used tested bacteria, followed by *S. aureus*, *P. aeruginosa*, and *K. pneumoniae*. Some studies included clinically isolated microbial strains compared with reference strains (16). Among tested bacteria, *A. burmannii* was reported as the most susceptible gram-negative bacteria (14,16), probably because of the difference in outer membrane from other Enterobacteriaceae (14,17).

Antibacterial activities

All studies reported that eucalyptus oil has antibacterial and antiviral activity against tested bacteria (Error! Reference source not found.). Antimicrobial activity is present in both the oil and its vapor (18).

Table 2 Studies included in analysis. A summary of the studies

Source of Eucalyptus oil	Study design	Experimental Methods	Microbial Strains	Result Finding	Country and Study	Study
<i>E. globulus</i> and <i>E. radiata</i>	Experimental	Disc diffusion and Broth microdilution	<i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> ATCC, and <i>A. baumannii</i>	Eucalyptus oil shows antibacterial activity. <i>E. radiata</i> oil shows more antibacterial activity than <i>E. globulus</i> oil.	Portugal	Luís et al. 2016 (16)
<i>E. camaldulensis</i>	Experimental	Disc diffusion and broth microdilution	<i>P. carotovorum</i> , <i>R. solanacearum</i> , <i>Dickeya</i> spp. And <i>A. tumefaciens</i> .	Eucalyptus oil shows antibacterial activity against the studied plant bacterial pathogen.	Egypt	El Hefny et al. 2017 (23)
<i>E. citriodora</i> folium, <i>E. radiata</i> folium, <i>E. globulus</i> folium and <i>E. globulus</i> fructus.	Experimental	Broth microdilution	MRSA, VRE, <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> and <i>A. baumannii</i>	Eucalyptus oil shows antibacterial activity. The most significant activity showed by oil from <i>E. globulus</i> fruit.	Germany	Mulyaningsih et al. 2011 (14)
<i>E. globulus</i>	Experimental	Disc diffusion and Broth microdilution	<i>B. cereus</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumonia</i> , MRSA	Eucalyptus oil shows antibacterial activity against tested bacteria. However, the effect is weaker than the <i>Thymus vulgaris</i> oils.	Iran	Tohidpour et al. 2010 (19)
<i>E. globulus</i>	Experimental	Agar well diffusion assay	<i>S. mutans</i>	Eucalyptus oil shows antibacterial activity against <i>S. mutans</i> .	India	Chaudhari et al. 2012 (24)
NA	Experimental	Disc diffusion assay	<i>L. buchneri</i> , <i>L. brevis</i> , <i>S. gordonii</i> , <i>S. mutans</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>P. micra</i> , <i>C. albicans</i> , <i>A. actinomycetemcomitans</i> , and <i>C. glabrata</i>	Eucalyptus oil shows antibacterial activity. However, the activity is lower compared with other tested essential oil.	Germany	Karbach et al. 2015 (11)

Source of Eucalyptus oil	Study design	Experimental Methods	Microbial Strains	Result Finding	Country and Study	Study
NA	Experimental	Disc diffusion assay	<i>P. gingivalis</i>	Eucalyptus oil shows antibacterial activity. The activity is directly proportional to the oil's concentration.	India	Hans et al. 2016 (12)
<i>E. globulus</i>	Experimental	Disc diffusion assay	<i>E. coli</i> , <i>S. paratyphi</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>Y. enterocolitica</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>A. hydrophila</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>E. faecalis</i> , and <i>S. aureus</i>	Eucalyptus oil shows antibacterial activity. The activity depends on the oil's composition and the tested bacterial strain.	Turkey	Ozogul et al. 2015 (20)
<i>E. camaldulensis</i>	Experimental	Agar well diffusion assay	<i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , and <i>Streptococcus sp.</i>	Eucalyptus oil extracted from the leaf and fruit shows antibacterial activity against tested bacteria.	Turkey	Dogan et al. 2017 (21)
<i>E. globulus</i>	Experimental	Disc diffusion assay	<i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , and <i>S. intermedius</i>	Eucalyptus oil shows antibacterial activity. The activity depends on its chemical composition.	Thailand	Chahomchuen et al. 2020 (13)
<i>E. citriodora</i> , <i>E. Smithii</i> , <i>E. Stern</i>	Experimental	Disc diffusion assay	<i>E. faecalis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> , MRSA, <i>S. tryphimurium</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. Pneumoniae</i> , <i>A. baumannii</i> , <i>C. violaceum</i>	Eucalyptus oil shows antibacterial activity. Oils from <i>E. citriodora</i> and <i>E. staigeriana</i> show the most significant activity. Gram-negative strains are more resistant to essential oil.	Portugal	Luís et al. 2017 (17)
<i>E. globulus</i>	Experimental	Disc diffusion assay	MRSA and <i>P. aeruginosa</i>	Eucalyptus oil shows antibacterial activity. However, its activity lower than other essential oil tested.	Hungary	Ács et al. 2016 (18)

Source of Eucalyptus oil	Study design	Experimental Methods	Microbial Strains	Result Finding	Country and Study	Study
<i>E. camaldulensis</i> , <i>E. polycarpa</i> , <i>E. malliodora</i> , and <i>E. largiflorence</i>	Experimental	Agar well diffusion and Broth microdilution	<i>S. aureus</i>	Eucalyptus oil shows antibacterial activity against <i>S. aureus</i> .	Iran	Panahi et al. 2011 (25)
<i>E. globulus</i>	Experimental	Disc diffusion and Broth microdilution	<i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>E. faecalis</i>	Eucalyptus oils show antibacterial activity. Also, show partial synergic activity with ampicillin against MRSA.	Tunisia	Salem et al. 2018 (15)
<i>E. bicostata</i> , <i>E. cinerea</i> , <i>E. maidenii</i> , <i>E. odorata</i> , <i>E. sideroxylon</i> , <i>E. lehmannii</i> , <i>E. astrigens</i> , and <i>E. leucoxylon</i>	Experimental	Disc diffusion assay Broth microdilution Cytotoxicity assay	<i>H. influenza</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. agalactiae</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. pyogenes</i> and Coxsackievirus B3 Nancy strain	Eucalyptus oil shows antibacterial and antiviral activity. Oils from <i>E. odorata</i> show the strongest antibacterial activity, and oils from <i>E. bicostata</i> shows the strongest antiviral activity.	Tunisia	Elaissi et al. 2012 (22)
<i>E. polybractea</i>	Experimental	Plaque assay technique	Influenza virus A strain <i>E. coli</i> phage M13	Eucalyptus oil aerosols show antiviral activity against Influenza Virus A at the tested condition.	Australia	Usachev et al. 2013 (26)

However, eucalyptus oil's antimicrobial activity is varied significantly within species and microbe strains (13). The antibacterial activity of essential oil is related to their lipophilic profile, enabling them to penetrate the cell and causing cell leakage (16). It has been reported that gram-positive bacteria are more susceptible to essential oil than gram-negative bacteria (15,20) because gram-negative bacteria have an outer membrane layer, which acts as a robust permeability barrier (17).

Compared with other essential oil, eucalyptus oil has lower antimicrobial effects (11,20,24) but has a better effect against several bacteria such as *Porphyromonas gingivalis* (12) and *A. actinomycetemcomitans* (11). Several studies reported that *S. aureus* is a susceptible bacteria toward eucalyptus oil (20,22,25). The eucalyptus oil synergizes with chloramphenicol against the *A. burmannii* strain (16) and ampicillin against MRSA (15). It also shows additional effects with ampicillin against *K. pneumoniae* (15).

Antiviral activities

Two studies reported the antiviral activity of eucalyptus oil (22,26). This finding shows that there are limited studies about the antiviral activity of eucalyptus oil. However, they only reported the oil's antiviral activity against Coxsackievirus B3 when the oil directly contacted the virus (22). It also has antiviral activity against the Influenza A virus but is ineffective against phage M13 (26). This result is similar to antibacterial activity, where its effects depend on virus strains and oils' chemical compounds. Although two reports show that the oil has antiviral activity, a more extensive study with various virus strains is needed to see how broad its antiviral spectrum is.

Limitation

Among the 16 studies included in this study, five studies were performed in Europe (11,14,16–18), seven studies were performed in Asia (12,13,19–21,24,25), three studies in Africa (15,22,23), and one study from Australia (26). Although there were only 16 articles returned in the search, this does not imply that the antimicrobial activity of eucalyptus oil has not been extensively studied. This is due to the study design limitation, which only limited the search for English literature. A similar study was most

likely reported in the local language, particularly in the region where eucalyptus oil is widely used.

Conclusion

This study concludes that eucalyptus oil has antibacterial dan antiviral activity. Thus, eucalyptus oil is a prominent alternative to antibiotics or disinfectants. However, further studies are needed to examine its mechanism of action and synergistic effects among the chemical component. For future research, eucalyptus oil's synergic effect with other compounds or antibiotics is needed to study the possibility of eucalyptus oil used in a clinic setting. Also, a study about the antiviral activity of eucalyptus oil is needed.

Acknowledgment

We are grateful to Elizabeth Rukmini for providing the open-source Meta-analysis class. The class is an accelerator media for this systematic review.

References

1. Coppen JJW, Hone GA. Eucalyptus oils: a review of production and markets (NRI Bulletin 56). 1992;
2. Silva SM, Abe SY, Murakami FS, Frensch G, Marques FA, Nakashima T. Essential oils from different plant parts of *Eucalyptus cinerea* F. Muell. ex Benth. (Myrtaceae) as a source of 1, 8-cineole and their bioactivities. *Pharmaceuticals*. 2011;4(12):1535–50.
3. Tyagi AK, Bukvicki D, Gottardi D, Tabanelli G, Montanari C, Malik A, et al. Eucalyptus essential oil as a natural food preservative: in vivo and in vitro antiyeast potential. *Biomed Res Int* [Internet]. 2014;2014:969143. Available from: files/276/Tyagi et al. - 2014 - Eucalyptus essential oil as a natural food preserv.pdf
4. Pain G. Eucalyptus oil applications and markets. 2007;
5. Hutchings MI, Truman AW, Wilkinson B. Antibiotics: Past, present and future. *Curr Opin Microbiol*. 2019;51:72–80.
6. Prescott JF. The resistance tsunami, antimicrobial stewardship, and the golden age of microbiology. *Vet Microbiol*.

- 2014;171(3-4):273-8.
7. Braine T. Race against time to develop new antibiotics. World Health Organization Bulletin of the World Health Organization. 2011;89(2):88.
8. CDC. What you need to know about influenza (flu) from CDC [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2020. Available from: <https://www.cdc.gov/flu/index.htm>
9. Randy Mulyanto. Eucalyptus necklace can 'kill coronavirus': Indonesian minister [Internet]. South China Morning Post. 2020. Available from: <https://www.scmp.com/week-asia/health-environment/article/3092226/coronavirus-can-be-killed-eucalyptus-necklace>
10. Brochot A, Guilbot A, Haddioui L, Roques C. Antibacterial, antifungal, and antiviral effects of three essential oil blends. Microbiologyopen [Internet]. 2017;6(4):e00459. Available from: [files/333/Brochot et al. - 2017 - Antibacterial, antifungal, and antiviral effects o.pdf](https://www.scmp.com/week-asia/health-environment/article/3092226/coronavirus-can-be-killed-eucalyptus-necklace)
11. Karbach J, Ebenezer S, Warnke PH, Behrens E, Al-Nawas B. Antimicrobial effect of Australian antibacterial essential oils as alternative to common antiseptic solutions against clinically relevant oral pathogens. Clin Lab [Internet]. 2015;61(1-2):61-8. Available from: [files/230/Karbach et al. - 2015 - Antimicrobial Effect of Australian Antibacterial E.pdf](https://www.scmp.com/week-asia/health-environment/article/3092226/coronavirus-can-be-killed-eucalyptus-necklace)
12. Hans VM, Grover HS, Deswal H, Agarwal P. Antimicrobial Efficacy of Various Essential Oils at Varying Concentrations against Periopathogen Porphyromonas gingivalis. J Clin Diagn Res [Internet]. 2016;10(9):ZC16-9. Available from: [files/234/Hans - 2016 - Antimicrobial Efficacy of Various Essential Oils a.pdf](https://www.scmp.com/week-asia/health-environment/article/3092226/coronavirus-can-be-killed-eucalyptus-necklace)
13. Chahomchuen T, Insuan O, Insuan W. Chemical profile of leaf essential oils from four Eucalyptus species from Thailand and their biological activities. Microchemical Journal [Internet]. 2020;158:105248. Available from: [http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X20310171](https://www.scmp.com/week-asia/health-environment/article/3092226/coronavirus-can-be-killed-eucalyptus-necklace)
14. Mulyaningsih S, Sporer F, Reichling J, Wink M. Antibacterial activity of essential oils from Eucalyptus and of selected components against multidrug-resistant bacterial pathogens. Pharm Biol [Internet]. 2011;49(9):893-9. Available from: [files/258/Mulyaningsih et al. - 2011 - Antibacterial activity of essential oils from E.pdf](https://www.scmp.com/week-asia/health-environment/article/3092226/coronavirus-can-be-killed-eucalyptus-necklace)
15. Salem N, Kefi S, Tabben O, Ayed A, Jallouli S, Feres N, et al. Variation in chemical composition of Eucalyptus globulus essential oil under phenological stages and evidence synergism with antimicrobial standards. Ind Crops Prod [Internet]. 2018;124:115-25. Available from: [http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669018306526](https://www.scmp.com/week-asia/health-environment/article/3092226/coronavirus-can-be-killed-eucalyptus-necklace)
16. Luís Â, Duarte A, Gominho J, Domingues F, Duarte AP. Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of Eucalyptus globulus and Eucalyptus radiata essential oils. Ind Crops Prod. 2016;79:274-82.
17. Luís Â, Duarte AP, Pereira L, Domingues F. Chemical Profiling and Evaluation of Antioxidant and Anti-Microbial Properties of Selected Commercial Essential Oils: A Comparative Study. Medicines (Basel) [Internet]. 2017;4(2). Available from: [files/196/Luís et al. - 2017 - Chemical Profiling and Evaluation of Antioxidant a.pdf](https://www.scmp.com/week-asia/health-environment/article/3092226/coronavirus-can-be-killed-eucalyptus-necklace)
18. Ács K, Bencsik T, Böszörményi A, Kocsis B, Horváth G. Essential oils and their vapors as potential antibacterial agents against respiratory tract pathogens. Nat Prod Commun. 2016;11(11):1934578X1601101121.
19. Tohidpour A, Sattari M, Omidbaigi R, Yadegar A, Nazemi J. Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Phytomedicine [Internet]. 2010;17(2):142-5. Available from: [files/263/Luís2015.pdf](https://www.scmp.com/week-asia/health-environment/article/3092226/coronavirus-can-be-killed-eucalyptus-necklace)

20. Ozogul Y, Kuley E, Ucar Y, Ozogul F. Antimicrobial Impacts of Essential Oils on Food Borne-Pathogens. Recent Pat Food Nutr Agric [Internet]. 2015;7(1):53–61. Available from: files/256/Ozogul et al. - 2015 - Antimicrobial Impacts of Essential Oils on Food Bo.pdf
21. Dogan G, Kara N, Bagci E, Gur S. Chemical composition and biological activities of leaf and fruit essential oils from Eucalyptus camaldulensis. Z Naturforsch C J Biosci [Internet]. 2017;72(11–12):483–9. Available from: files/222/Dogan et al. - 2017 - Chemical composition and biological activities of .pdf
22. Elaissi A, Rouis Z, Salem NA ben, Mabrouk S, ben Salem Y, Salah KBH, et al. Chemical composition of 8 eucalyptus species' essential oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities. BMC Complement Altern Med [Internet]. 2012;12(1):81. Available from: <https://bmccomplementalternmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6882-12-81>
23. El-Hefny M, Ashmawy NA, Salem MZM, Salem AZM. Antibacterial activities of the phytochemicals-characterized extracts of Callistemon viminalis, Eucalyptus camaldulensis and Conyza dioscoridis against the growth of some phytopathogenic bacteria. Microb Pathog [Internet]. 2017;113:348–56. Available from: files/228/EL-Hefny et al. - 2017 - Antibacterial activities of the phytochemicals-cha.pdf
24. Chaudhari LKD, Jawale BA, Sharma S, Sharma H, Kumar CDM, Kulkarni PA. Antimicrobial activity of commercially available essential oils against Streptococcus mutans. J Contemp Dent Pract [Internet]. 2012;13(1):71–4. Available from: files/269/Chaudhari et al. - 2012 - Antimicrobial activity of commercially available e.pdf
25. Panahi Y, Sattari M, Pour Babaie A, Beiraghdar F, Ranjbar R, Hedaia Joo A, et al. The Essential Oils Activity of Eucalyptus polycarpa, E. largiflorence, E. malliodora and E. camaldulensis on Staphylococcus aureus. Iran J Pharm Res [Internet]. 2011;10(1):43–8. Available from: files/246/Panahi et al. - 2011 - The Essential Oils Activity of Eucalyptus polycarp.pdf
26. Usachev E v, Pyankov O v, Usacheva O v, Agranovski IE. Antiviral activity of tea tree and eucalyptus oil aerosol and vapour. J Aerosol Sci [Internet]. 2013;59:22–30. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021850213000086>

Faktor Resiko Kejadian Peningkatan Kadar Transaminase Pada Penggunaan Obat Antituberkulosis Pasien Tuberkulosis Paru di RST Wijayakusuma Purwokerto

Alya Andina Dasuki¹, Annisa Farida Muti^{2*}, Hany Yusmaini¹

Artikel Penelitian

Abstract: Most of the tuberculosis cases reported in Indonesia were in provinces with high population density, including Central Java. The combination of first-line antituberculosis drugs including pyrazinamide, isoniazide and rifampicin has the potential to cause hepatotoxicity as indicated by an increase in transaminase levels. Incidence of elevated transaminase levels leading to drug resistance and treatment failure. Early detection of elevated transaminase levels by antituberculosis drugs is important by studying predisposing risk factors. The purpose of this study was to determine the relationship between risk factors and the incidence of increased levels of transaminases due to the use of anti-tuberculosis drugs in patients with pulmonary tuberculosis at RST Wijayakusuma Purwokerto. This type of research is an observational analytic study with a cross-sectional design. A total of 80 samples were selected by random sampling. Data collection is done by viewing and recording the patient's medical record. Data were analyzed using the Chi-squared test and Logistic Regression test. The results of the bivariate analysis with the Chi-Square test showed that there was a significant relationship between old age ($p = 0,000$), female gender ($p = 0.035$), malnutrition ($0,000$), length of treatment ($p = 0.026$) and a history of taking other drugs. ($p = 0.008$). The most influential factor was the elderly ($OR = 8.815$) on the incidence of elevated transaminase levels; followed by nutrition status ($OR=6,478$).

Keywords: tuberculosis, hepatotoxicity, therapeutic drug monitoring, risk factor.

Abstrak: Kasus penyakit tuberkulosis terbanyak yang dilaporkan di Indonesia terdapat di provinsi dengan kepadatan penduduk yang tinggi termasuk Jawa Tengah. Kombinasi obat antituberkulosis lini pertama yaitu pirazinamid, isoniazid, dan rifampisin berpotensi menyebabkan hepatotoksitas yang ditandai oleh peningkatan kadar transaminase. Insiden peningkatan kadar transaminase ini menyebabkan resistensi obat dan kegagalan terapi. Penting untuk mendeteksi dini peningkatan kadar transaminase oleh obat antituberkulosis dengan cara mempelajari faktor risiko predisposisinya. Tujuan penelitian adalah meneliti hubungan antara faktor resiko kejadian peningkatan kadar transaminase akibat penggunaan obat antituberkulosis pada pasien tuberkulosis paru yang ada di RST Wijayakusuma Purwokerto. Jenis penelitian ini adalah studi analitik observasional dengan desain cross-sectional. Sebanyak 80 sampel dipilih secara random sampling. Pengumpulan data dilakukan dengan melihat dan mencatat di rekam medis pasien. Data dianalisis menggunakan uji Chi-squared dan uji Regresi Logistik. Hasil analisis bivariat dengan uji Chi-Square didapatkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara usia lanjut ($p=0,000$), jenis kelamin perempuan ($p= 0,035$), gizi kurang ($0,000$), lama pengobatan ($p=0,026$) dan riwayat konsumsi obat lain ($p=0,008$). Faktor yang paling berhubungan peningkatan kadar transaminase akibat konsumsi OAT pada pasien TB paru di RST Wijayakusuma Purwokerto adalah usia ($OR=8,815$) diikuti oleh status gizi ($OR=6,478$).

Kata kunci: tuberkulosis, hepatotoksik, kadar transaminase, faktor resiko

¹Program Studi Kedokteran
Program Sarjana, Fakultas
Kedokteran, Universitas
Pembangunan Nasional
Veteran Jakarta, Jakarta,
Indonesia

²Program Studi Farmasi
Program Sarjana, Fakultas
Kedokteran, Universitas
Pembangunan Nasional
Veteran Jakarta, Jl. RS.
Fatmawati No.1, Cilandak,
Jakarta, Indonesia

Korespondensi:

Annisa Farida Muti
afmuti@upnvj.ac.id

Pendahuluan

Tuberkulosis (TB) adalah suatu penyakit kronik menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri ini berbentuk batang dan bersifat tahan asam sehingga sering dikenal dengan Basil Tahan Asam (BTA). Sebagian besar kuman TB sering ditemukan menginfeksi parenkim paru dan menyebabkan TB paru, namun bakteri ini juga memiliki kemampuan menginfeksi organ tubuh lainnya (TB ekstra paru) seperti pleura, kelenjar limfe, tulang, dan organ ekstra paru lainnya (1).

Berdasarkan *Global TB Report 2018*, diperkirakan di Indonesia pada tahun 2017 terdapat 842.000 kasus TB baru (319 per 100.000 penduduk) dan kematian karena TB sebesar 116.400 (44 per 100.000 penduduk) termasuk pada TB-HIV positif. Terlepas dari kemajuan yang telah dicapai Indonesia, jumlah kasus TB baru di Indonesia masih menduduki peringkat ketiga di dunia dan merupakan salah satu tantangan terbesar yang dihadapi Indonesia dan memerlukan perhatian dari semua pihak, karena memberikan beban morbiditas dan mortalitas yang tinggi. TB merupakan penyebab kematian tertinggi setelah penyakit jantung iskemik dan penyakit serebrovaskuler. Pada tahun 2017, angka kematian akibat TB adalah 40/100.000 populasi (tanpa TBHIV) dan 3,6 per 100.000 penduduk (termasuk TB-HIV) (1). Jumlah penderita TB di Jawa Tengah tahun 2017 sebanyak 47.850 kasus, meningkat dibanding tahun 2016 sebanyak 39.982 kasus, meskipun demikian jumlah kasus yang ditemukan baru mencapai 44% dari estimasi kasus yang ada. *Success rate* atau angka keberhasilan pengobatan pasien diobati pada tahun 2016 sebesar 82,89%, meskipun jika dibandingkan dengan angka keberhasilan pengobatan pada tahun 2015 mengalami peningkatan, namun nilai ini belum memenuhi target nasional sebesar >90% (2).

Panduan obat antituberkulosis (OAT) lini pertama yang banyak digunakan adalah obat kombinasi dosis lengkap (KDT) mengandung obat isoniazid (H), pirazinamid (Z), rifampisin (R), streptomisin (S) dan etambutol (E). Isoniazid, rifampisin, dan pirazinamid adalah panduan obat yang berpotensi memberikan efek samping hepatotoksik. Pemberian isoniazid kerap menimbulkan gangguan fungsi hati (berupa

hepatitis) berkisar antara 0,2-5% dan insiden ini akan meningkat apabila isoniazid dikonsumsi bersamaan dengan rifampisin. Insiden hepatitis yang diinduksi pirazinamid terjadi sebanyak 15% jika dosis yang dikonsumsi sebanyak 40-50 mg/kgBB/hari (3). Di samping itu, rifampisin juga merupakan obat yang menginduksi enzim sitokrom P450 sehingga mengakibatkan terjadinya peningkatan metabolisme dari isoniazid yang dapat meningkatkan hidrazin dan metabolit toksik lainnya. Peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang diakibatkan oleh metabolisme ini bisa berdampak pada peroksidase lipid dan nekrosis sel. Nekrosis sel ini yang menyebabkan terjadinya hepatotoksitas akibat OAT (4).

Hepatotoksitas akibat OAT memang tidak terjadi pada setiap pasien namun dapat menyebabkan cedera hati luas dan permanen serta dapat menyebabkan kematian bila tidak terdeteksi pada tahap awal (5). Hepatotoksitas adalah salah satu efek samping yang sering terjadi pada pengobatan TB dan yang paling serius. Hepatotoksitas dapat ditandai dengan meningkatnya kadar transaminase yaitu AST (*aspartate transaminase*) dengan nama lain SGOT (*Serum Glutamat Oxaloacetate Transaminase*) dan ALT (*alanine transaminase*) dengan nama lain SGPT (*Serum Glutamate Pyruvate Transaminase*). SGOT dan SGPT menunjukkan peningkatan jika terjadi inflamasi atau destruksi hepatoseluler. SGPT lebih spesifik terhadap kerusakan hati dibanding dengan SGOT (6).

Faktor resiko dari pasien yang berperan pada terjadinya hepatotoksitas yang diinduksi obat antara lain usia, jenis kelamin, alkoholisme, abnormalitas nilai SGPT dan bilirubin, status gizi, serta pemakaian beberapa obat hepatotoksitas secara bersamaan (7). Gejala hepatotoksitas yang diinduksi obat bervariasi dari gejala ringan seperti kehilangan nafsu makan, kelelahan, sakit perut, demam, dan ikterus dengan peningkatan transaminase hingga gejala gagal hati akut. Jika terjadi hepatotoksitas yang diinduksi obat selama pengobatan TB, maka pengobatan dapat dihentikan sampai gejala klinis hilang selama dua minggu dan fungsi hati kembali normal. Pirazinamid tidak digunakan untuk pengobatan selanjutnya (8,9).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Pranata et al menemukan bahwa pravelensi hepatotoksik akibat OAT sebesar 14,17% dari total 120 pasien TB RSUP Sanglah Denpasar dengan faktor resiko hepatotoksik akibat OAT yang berpengaruh signifikan adalah lokasi TB dan status gizi (10). Pada penelitian ini peneliti mengeksklusikan TB ekstra paru dan menambahkan faktor resiko lain berupa lama pengobatan dan riwayat pengobatan lain. Penelitian ini mengambil tempat di RST Wijayakusuma karena pravelensi penyakit TB di rumah sakit tersebut tinggi sehingga memenuhi kebutuhan sampel peneliti. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang faktor resiko peningkatan kadar transaminase akibat OAT sebagai upaya preventif hepatotoksik untuk meningkatkan success rate treatment pada pasien TB RST Wijayakusuma Purwokerto.

Metode

Penelitian ini merupakan studi observasional jenis *cross sectional*. Pengambilan data dilakukan secara retrospektif menggunakan data sekunder yang diperoleh dari rekam medis pasien TB paru di RST Wijayakusuma Purwokerto tahun 2018. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan kelaikan etik (*ethical clearance*) dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta dengan nomor 2805/XII/2020/KEPK.

Populasi penelitian adalah seluruh pasien TB paru di RST Wijayakusuma Purwokerto. Teknik sampling adalah random sampling yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi. Kriteria inklusi antara lain (a) Pasien terdiagnosis TB paru oleh dokter spesialis paru di RST Wijayakusuma Purwokerto dan terdaftar di rekam medik, (b) Pasien TB paru dewasa (berusia >18 tahun), (c) Pasien telah memperoleh pengobatan TB berupa OAT kategori 1 sesuai pedoman nasional pengendalian TB dan (d) Pasien telah melakukan pemeriksaan laboratorium fungsi hati sebelum mengonsumsi dalam batas normal dan melakukan pemeriksaan kembali minimal 5 hari setelah mengonsumsi OAT. Kriteria eksklusi antara lain (a) Pengguna alkohol selama minimal 6 bulan, (b) Pasien yang

menderita TB disertai penyakit lain yang dapat mengganggu tes fungsi hati (contoh infeksi hepatitis B atau hepatitis C), (c) Pasien dengan TB resisten atau *Multi Drug Resistance* dan (d) Pasien dengan data rekam medis yang tidak lengkap.

Perhitungan besar sampel dilakukan dengan Rumus Uji Hipotesis Beda Proporsi:

$$\frac{Z\alpha\sqrt{2PQ} + Z\beta\sqrt{P_1Q_1 + P_2Q_2}}{P_1 - P_2}$$

$$\left(\frac{1,282\sqrt{2(0,8)(0,2)} + 0,842\sqrt{(0,9)(0,1) + (0,7)(0,3)}}{0,9 - 0,7} \right)^2$$

n = 35 sampel

Keterangan:

$Z\alpha$ = deviat baku alfa (1,282)

$Z\beta$ = deviat baku beta (0,842)

P_1 = proporsi pada kelompok yang nilainya judgement peneliti

P_2 = proporsi pada kelompok yang sudah diketahui nilainya (0,7)

$P = (P_1 + P_2) / 2$

$Q = 1 - P$

Untuk mencegah drop out maka sampel ditambah 10% dari jumlah sampel, maka menjadi 40 sampel pada setiap kelompok sampel dan total sampelnya 80 sampel

Hasil dan Diskusi

Tabel 1 menunjukkan gambaran pasien TB paru di RST Wijayakusuma Purwokerto didominasi oleh pasien dengan usia <60 tahun (65%) dan berjenis kelamin laki laki (62,5%). Seseorang yang bekerja di lingkungan yang padat dan sering kontak dengan banyak orang menyebabkan resiko terjadinya TB paru semakin tinggi. Lingkungan kerja tersebut menyebabkan penderita TB paru lebih banyak dan lebih mudah pada kelompok usia produktif. Seseorang dengan usia produktif cenderung memiliki aktivitas tinggi yang memungkinkan paparan bakteri *Mycobacterium TB* lebih besar. Selain itu reaktivasi endogen (aktif kembali yang telah ada dalam tubuh) dapat terjadi pada usia yang sudah tua (11).

Tabel 1. Karakteristik Pasien TB Paru di RST Wijayakusuma Purwokerto

Karakteristik	Kategori	Jumlah (n=80)	Persentase (%)
Usia	18-<60 tahun	52	65
	≥60 tahun	28	35
Jenis kelamin	Laki-laki	50	62,5
	Perempuan	30	37,5
Status gizi	Gizi kurang	23	28,7
	Gizi cukup	57	71,3
Lama pengobatan	1-2 bulan (fase intensif)	47	58,7
	3-6 bulan (fase lanjutan)	33	41,3
Riwayat konsumsi obat lain	Pernah	23	28,7
	Tidak pernah	57	71,3

Tabel 2. Klasifikasi Derajat Hapatotoksik (Peningkatan Kadar Transaminase) Akibat OAT Pasien TB Paru di RST Wijayakusuma Purwokerto

Klasifikasi	Jumlah (n=19)	Persentase (%)
Tingkat I (SGPT meningkat 1,5–2,5× normal)	1	5,2
Tingkat II (SGPT meningkat 2,6–5× normal)	11	57,9
Tingkat III (SGPT meningkat 5,1–20× normal)	8	42,1
Tingkat IV (SGPT meningkat > 20× normal)	0	0

Penelitian ini sejalan dengan penelitian oleh Inez Clarasanti et al yang menyebutkan bahwa golongan usia produktif <30 tahun memiliki intensitas terbanyak sebanyak 48 pasien, sedangkan sampel dengan kadar enzim transaminase tinggi setelah pengobatan anti TB paling banyak terdapat di golongan usia 41-50 tahun adalah 16 pasien (12).

Status gizi pasien pada **Tabel 1** menunjukkan paling banyak terdapat pada kategori gizi kurang sebanyak 23 orang. Status gizi diklasifikasikan ke dalam dua kelompok, yaitu kelompok dengan gizi kurang (IMT <18,5 kg/m²) dan kelompok gizi cukup (IMT ≥18,5 kg/m²). *Cut-off* IMT 18,5 kg/m² diambil dari penelitian lain yang serupa (13). Nutrisi memainkan peran penting dalam penatalaksanaan penyakit akut dan kronis, terutama dalam hal respons tubuh terhadap

organisme patogen. Nutrisi juga berhubungan dengan peningkatan respons kekebalan tubuh terhadap patogen intraseluler termasuk *Mycobacterium tuberculosis*. Nutrisi ini memiliki efek imunomodulator dalam mengendalikan proses infeksi dan peradangan. Malnutrisi baik mikronutrien maupun makronutrien dapat menyebabkan sindrom imunodefisiensi yang meningkatkan kerentanan individu terhadap perkembangan infeksi menjadi penyakit. Mekanisme kekurangan nutrisi menyebabkan gangguan yang dimediasi sel dan respons imun humoral, yang pada gilirannya memengaruhi kemampuan individu untuk melawan infeksi atau penyakit akibat *Mycobacterium tuberculosis* (14). TB paru adalah masalah kesehatan umum yang berkaitan erat dengan kemiskinan dan cenderung dialami oleh masyarakat dengan perekonomian

kelas bawah. Hal tersebut mengakibatkan kualitas hidup menurun sehingga banyak pasien TB paru yang mengalami gizi kurang. Gizi kurang berkaitan dengan penurunan fungsi tubuh dan merupakan faktor resiko utama terhadap morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia dan berkontribusi sebagai faktor risiko yang lebih besar terhadap TB paru dibandingkan HIV/AIDS dalam populasi. Status gizi dapat menjadi indikasi prognosis pasien TB paru rawat jalan, faktor tersebut menyimpulkan bahwa peningkatan resiko kematian pada pasien TB paru disebabkan malnutrisi. Status gizi memiliki peran penting dalam progresivitas penyakit karena status gizi yang baik akan meningkatkan imunitas tubuh. Orang yang mengidap status gizi kurang akan berakibat pada menurunnya imunitas. Hal tersebut juga dikarenakan orang dengan kekurangan nutrisi dan protein akan terjadi penurunan sintesis asam amino dan terjadi perubahan sel mediator imunitas dalam fungsi bakterisidal neutrofil dan sistem komplemen dalam respon IgA (15). Hasil penelitian Isma Yuniar (2017) juga disebutkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna antara status gizi dengan kejadian TB paru ($p=0,028$) (16). Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Feby Patiung (2014) juga menunjukkan hasil yang tidak berbeda dimana dari sampel yang didapatkan di RSUP Prof.Dr.R.D Kandou didapatkan hanya 22% yang memiliki IMT normal sedangkan yang *underweight* sebanyak 77,8% (17).

Tabel 1 juga menunjukkan sebagian besar pasien juga dalam fase pengobatan intensif yaitu sebanyak 47 orang (58,7%). Pengobatan TB dilakukan dalam enam bulan dan meliputi dua tahap yang terdiri dari tahap intensif selama dua bulan dan tahap lanjutan selama empat bulan. Pengobatan wajibnya adalah pemberian OAT yang diberikan dalam bentuk kombinasi beberapa obat, dalam jumlah cukup dan dosis tepat sesuai dengan kategori pengobatan. Sekitar 15% pasien tidak dapat menyelesaikan pengobatan karena efek samping yang terkait dengan OAT. Hepatotoksisitas adalah salah satu efek samping paling umum yang menyebabkan penghentian pengobatan dengan isoniazid, rifampisin, dan pirazinamid (4). Selain itu, dilaporkan pula bahwa setelah satu bulan

pengobatan OAT, transaminase dan bilirubinase meningkat setelah dua dan empat bulan, dan nilai tertinggi muncul pada bulan kedua (7).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pasien yang mengonsumsi obat selain OAT terdapat 23 orang, lebih sedikit dibandingkan yang tidak mengonsumsi obat lain yaitu 57 orang (71,25%) (**Tabel 1**). Agen obat tertentu dapat melukai organ hati jika dikonsumsi dalam dosis berlebih dan terkadang bahkan jika dimasukkan dalam kisaran terapeutik. Obat-obatan sering menyebabkan kerusakan subklinis pada hati yang bermanifestasi peningkatan kadar transaminase. Efek samping OAT terkadang diperkuat oleh beberapa regimen obat. Jadi meskipun isoniazid, rifampisin dan pirazinamid masing-masing berpotensi hepatotoksik, namun apabila diberikan dalam kombinasi maka efek toksiknya meningkat (18). Penggunaan kombinasi obat, yang disebut polifarmasi, umum digunakan untuk mengobati pasien dengan penyakit kompleks atau kondisi yang menyertai. Namun, konsekuensi utama dari polifarmasi adalah risiko efek samping yang merugikan yang bisa lebih tinggi bagi pasien. Efek samping polifarmasi muncul biasanya karena interaksi obat-obat, dimana aktivitas satu obat dapat berubah, baik atau buruk, jika dikonsumsi dengan obat lain (19).

Selanjutnya, penelitian ini juga menganalisis secara bivariat tentang hubungan faktor-faktor tersebut dengan peningkatan kadar transaminase akibat OAT. Berdasarkan hasil analisis statistik Chi-Square dengan SPSS 24, faktor-faktor antara lain usia lansia, jenis kelamin perempuan, status gizi kurang, lama pengobatan 3-6 bulan dan adanya riwayat penggunaan obat menunjukkan hubungan yang signifikan secara statistik dengan peningkatan kadar transaminase akibat OAT pasien OAT pasien TB paru RST Wijayakusuma Purwokerto ($p<0,05$) (**Tabel 3**).

Usia lanjut berhubungan dengan peningkatan kadar transaminase akibat konsumsi OAT pada pasien TB paru di RST Wijayakusuma Purwokerto ($p=0,000$) (**Tabel 3**). Faktor utama yang mempengaruhi efek samping konsumsi obat adalah usia, utamanya pada golongan lansia dan anak-anak (termasuk neonatus dan bayi).

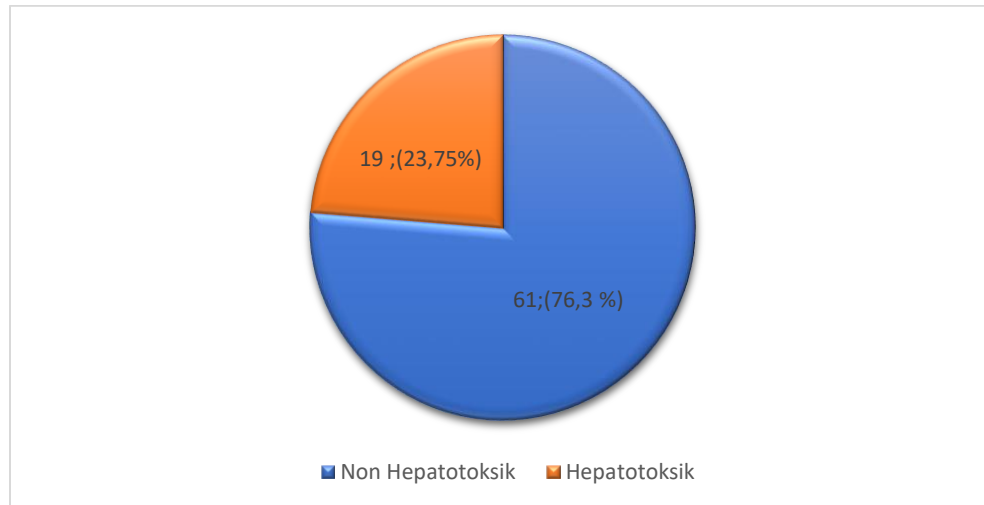
Tabel 3. Analisis Bivariat Hubungan Faktor yang Berhubungan dengan Peningkatan Kadar Transaminase Akibat OAT Pasien TB Paru di RST Wijayakusuma Purwokerto

Faktor Resiko	Kategori	Hepatotoksik akibat OAT				Jumlah		p-value	OR	95% CI
		Ya		Tidak						
		F	%	F	%	F	%			
Usia	18-<60 tahun	4	21,1	48	78,7	52	65	0,000	13,846	3,921-48,899
	≥60 tahun	15	78,9	13	21,3	28	35,0			
Jenis kelamin	Laki-laki	8	42,1	42	68,9	50	62,5	0,035	3,039	1,053-8,771
	Perempuan	11	57,9	19	31,1	30	37,5			
Status gizi	Gizi kurang (<18,5 kg/m²)	13	68,4	10	16,4	23	28,8	0,000	11,050	3,391-36,004
	Gizi Cukup (≥18,5 kg/m²)	6	31,6	51	83,6	57	71,3			
Lama pengobatan	1-2 bulan	7	36,8	40	65,6	47	58,8	0,026	3,265	1,118-9,533
	3-6 bulan	12	63,2	21	34,4	33	41,3			
Riwayat pengobatan lain	Pernah	10	52,6	13	21,3	23	28,8	0,008	4,103	1,38-12,193
	Tidak pernah	9	47,4	48	78,7	57	71,3			

Kerentanan pada masa anak-anak terhadap kejadian efek samping obat disebabkan karena tubuh belum berkembang secara sempurna untuk memetabolisme obat. Sebaliknya, pada usia lanjut peningkatan resiko kejadian efek samping obat dipengaruhi oleh beragam faktor diantaranya polifarmasi, penurunan fungsi metabolisme pada hepar serta penurunan fungsi ginjal untuk mengekskresi obat, serta akibat penurunan kadar air dalam tubuh dan peningkatan lemak mengakibatkan obat larut air di dalam tubuh berkonsentrasi tinggi, sedangkan obat larut lemak terakumulasi dalam tubuh (20). Usia lanjut merupakan faktor predisposisi penting untuk hepatotoksik imbas obat yang ditandai dengan peningkatan kadar transaminase. Data dari Islandia menunjukkan bahwa insiden hepatotoksik imbas obat yang relatif lebih tinggi pada populasi lansia dapat dijelaskan oleh peningkatan jumlah obat yang diminum (21). Usia lanjut mungkin rentan terhadap efek samping obat ini karena fungsi hati dapat menurun seiring

bertambahnya usia. Kelompok rentan ini memerlukan pemantauan klinis yang cermat terhadap fungsi hati selama masa pengobatan TB (22). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Wardhana et al tahun 2018 yang menyatakan bahwa hasil analisis regresi logistik multivariat menunjukkan bahwa usia merupakan faktor risiko signifikan hepatotoksitas dengan OR: 1.056, 95% CI 1.0121-1.091 (23).

Jenis kelamin perempuan berhubungan dengan peningkatan kadar transaminase akibat konsumsi OAT pada pasien TB paru di RST Wijayakusuma Purwokerto ($p=0,035$) (Tabel 3). Faktor utama yang perlu diperhitungkan dalam mengevaluasi respon obat adalah perbedaan pada jenis kelamin. Struktur anatomi dan fungsi fisiologis yang berbeda antara laki laki dan perempuan memberikan perubahan pada farmakokinetik obat, termasuk komposisi tubuh, berat badan, fungsi ginjal, motilitas gastrointestinal, serta metabolisme dalam hepar.



Gambar 1. Prevalensi Hepatotoksik (Peningkatan Kadar Transaminase) Akibat OAT Pasien TB Paru di RST Wijayakusuma Purwokerto

Perempuan cenderung memiliki berat badan lebih rendah dibandingkan dengan laki-laki, komposisi lemak pada perempuan lebih banyak, sedangkan ukuran organ lebih kecil. Aktivitas CYP3A4 juga lebih kuat pada perempuan dan laju filtrasi ginjal menjadi lebih rendah. Hal ini menyebabkan perempuan memiliki efek samping obat yang lebih tinggi dibandingkan laki-laki (24). Salah satu faktor yang mempengaruhi kejadian hepatotoksik yang ditandai dengan naiknya kadar transaminase yaitu jenis kelamin. Laki-laki dan perempuan mungkin memiliki perbedaan dalam kerentanan terhadap hepatotoksik yang disebabkan oleh pengobatan yang berbeda. Misalnya, perempuan lebih rentan terhadap cedera hati yang terkait dengan halotan, flukloksasilin, isoniazid, nitrofurantoin, klorpromazin, atau eritromisin, sedangkan laki-laki memiliki peningkatan risiko cedera hati akibat azathioprine (25). Perempuan dewasa empat kali lipat lebih rentan terhadap hepatotoksik akibat obat dibandingkan laki-laki, karena aktivitas tinggi CYP3A pada perempuan. Enzim ini mengoksidasi isoniazid beracun hidrazin, yang merupakan hasil dari isoniazid hidrolisis menjadi N-hidroksi asetil hidrazin sebelum didehidrasi lebih lanjut untuk menghasilkan asetil diazine. Asetil-diazin dapat terdegradasi menjadi metabolit beracun atau ion asetil onium, ketena, radikal asetil yang berikatan secara kovalen makromolekul hepatik, menyebabkan kerusakan hepatoseluler (26). Hasil penelitian yang dilakukan oleh I Gede

Juliarta menunjukkan hasil yang berbeda dimana jumlah sampel 71 pasien, mendapati bahwa prevalensi hepatotoksitas sebesar 16 pasien (22,5%) dengan mayoritas jenis kelamin laki-laki 9 pasien (56,25%). Hal ini mungkin disebabkan karena jumlah sampel pasien TB yang didominasi oleh laki-laki sehingga mempengaruhi hasilnya (27).

Status gizi kurang berhubungan dengan peningkatan kadar transaminase akibat konsumsi OAT pada pasien TB paru di RST Wijayakusuma Purwokerto ($p=0,000$) (**Tabel 3**). Hal ini mungkin disebabkan oleh berkurangnya cadangan glutathion pada individu dengan IMT yang rendah, yang akan menyebabkan penurunan proses detoksifikasi dan meningkatkan risiko kerusakan sel hati (28). Hasil yang serupa dengan proporsi hepatotoksik akibat OAT pada kelompok dengan status gizi kurang, lebih besar daripada kelompok status gizi cukup, ditandai dengan terdapat hubungan signifikan antara status gizi dengan peningkatan kadar transaminase akibat OAT ($p=0,01$) (13). Ali et al juga melaporkan proporsi pasien yang serupa di mana proporsi *drug induced liver disease* (DILI) akibat OAT pada kelompok gizi kurang lebih besar daripada kelompok gizi cukup dengan uji chi-square yang tidak signifikan ($p>0,05$) (29). Ketiga penelitian ini sesuai dengan teori yang ada menyatakan bahwa pasien dengan IMT yang lebih rendah berisiko mengalami cedera oksidatif akibat menurunnya glutathion yang berperan dalam sistem

kekebalan tubuh, regenerasi sel, aktivitas antioksidan, serta antitoksin (30).

Lama pengobatan pada fase lanjutan (3-6 bulan) berhubungan dengan peningkatan kadar transaminase akibat konsumsi OAT pada pasien TB paru di RST Wijayakusuma Purwokerto ($p=0,026$) (**Tabel 3**). Interval waktu antara pengobatan anti-TB awal dan timbulnya gejala hepatotoksitas bervariasi antara 3-135 hari dan perkembangan hepatotoksik dapat dimulai selama dua minggu pertama pemberian obat. Dalam kebanyakan kasus, hepatitis terjadi dalam waktu tiga bulan sejak dimulainya pengobatan anti-TB (31). Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Lestari dimana menyebutkan bahwa pasien TB paru paling banyak mengalami peningkatan adalah pada fase lanjutan sekitar 4 pasien dari 9 pasien TB (52%) (32). Begitu pula dengan penelitian Praditya yang menemukan fakta bahwa setelah pemberian OAT ke pasien TB paru di Medan di RS Siti Hajar Medan, Sumatera Utara, sebanyak 17 orang (43%) penderita TB paru mengalami peningkatan transaminase, dan paling banyak ditemukan pada minggu keempat sampai minggu keenam (12,33). Namun, hasil penelitian ini menunjukkan hasil yang berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Zara Safira yang menemukan bahwa kejadian hepatotoksik akibat pengobatan OAT terjadi paling banyak pada minggu kedua sampai keempat sampai delapan ditemukan sekitar 15 pasien (42%). Sebanyak 9 pasien (25%) muncul peningkatan enzim transaminase pada minggu ke 2, pada minggu ke 4-8 terdapat 5 pasien (14%) yang mengalami peningkatan, dan 7 pasien (19%) mengalami peningkatan kadar transaminase pada pengonsumsi OAT lebih dari 8 minggu (34).

Adanya riwayat konsumsi obat lain berhubungan dengan peningkatan kadar transaminase akibat konsumsi OAT pada pasien TB paru di RST Wijayakusuma Purwokerto ($p=0,008$) (**Tabel 3**). Peningkatan risiko hepatotoksitas dari beberapa obat mungkin terjadi akibat polifarmasi. Polifarmasi merupakan pengonsumsi lima macam obat atau lebih secara bersama sama setiap harinya. Paling sering disalahgunakan sebagai terapi untuk masalah kesehatan pada pasien lansia (usia >60 tahun). Peningkatan jumlah pemberian resep obat kepada pasien geriatri diakibatkan oleh riwayat

penyakit kronik (19). Obat-obatan tertentu dapat memodifikasi potensi hepatotoksik obat lain dengan induksi enzim dan mengarah pada pembentukan metabolit reaktif. Contoh penginduksi CYP adalah rifampisin, fenitoin, isoniazid, merokok, dan etanol. Beberapa jalur metabolisme dan detoksifikasi obat dapat meningkatkan risiko hepatotoksitas dari obat lain. Dalam metaanalisis studi hepatotoksitas dari isoniazid dan rifampisin, kejadian cedera hati secara signifikan lebih besar di antara pasien yang menerima kombinasi obat ini daripada mereka yang mengonsumsi pengobatan tunggal. Rifampisin, yang dapat menginduksi enzim mikrosom, tampaknya meningkatkan risiko cedera hati akibat isoniazid dalam frekuensi dan latensi. Pirazinamide dilaporkan meningkatkan hepatotoksitas isoniazid (25).

Dari beberapa faktor resiko di atas, kekuatan hubungan faktor resiko terbesar adalah usia dan status gizi ($p\text{ value}<0,005$). Usia menjadi faktor resiko yang paling dominan dilihat dari nilai OR-nya, yang artinya pasien TB yang berusia ≥ 60 tahun memiliki risiko 8,815 kali lebih tinggi untuk mengalami peningkatan enzim transaminase daripada pasien TB berusia <60 tahun. Hasil yang serupa juga didapatkan dari penelitian sebelumnya oleh Chalasani et al (2010) bahwa risiko peningkatan kadar transaminase dari isoniazid meningkat secara signifikan seiring bertambahnya usia. Dalam sebuah penelitian besar pada pasien di klinik TB Amerika Serikat, kejadian peningkatan kadar transaminase isoniazid terdapat sebanyak 4,4% pasien usia 25-34 tahun, dan meningkat menjadi 20,83% pasien berusia 50 tahun ke atas. Alasan usia mempengaruhi fenotipe peningkatan kadar transaminase akibat obat masih idiopatik, namun beberapa penelitian menyebutkan bahwa usia yang lebih tua dapat mempengaruhi pembersihan substrat CYP3A tertentu. Mekanisme ini dicapai dengan menghasilkan lebih banyak metabolit reaktif atau memiliki respons imun yang meningkat terhadap metabolit ini (25). Teori menyebutkan bahwa pada lansia atau geriatri ke atas terjadi proses penuaan yang sifatnya menyeluruh meliputi penurunan dari fungsi biosel, jaringan, organ, yang sifatnya berubah ubah secara bertahap akumulasi progresif dan intrinsik.

Tabel 4. Analisis Multivariat Hubungan Faktor yang Berhubungan dengan Peningkatan Kadar Transaminase Akibat OAT Pasien TB Paru di RST Wijayakusuma Purwokerto

Variabel	p-value	OR	95% CI
Usia	0,002*	8,815	2,294 - 33,863
Status Gizi	0,005*	6,478	1,754 - 23,922
Jenis Kelamin	0,076	3,484	0,878 - 13,823
Riwayat pengobatan lain	0,269	2,272	0,530 - 9,746
Lama Pengobatan	0,412	1,881	0,415 - 8,522

Terjadinya perubahan pada berbagai organ di dalam tubuh akibat dari proses penuaan pada berbagai sistem tubuh seperti sistem genitouria, sistem imunologi, sistem serebrovaskular, sistem saraf pusat, sistem gastrointestinal dan lain sebagainya. Hal tersebut menyebabkan mekanisme perjalanan dan efek samping obat juga secara signifikan mengalami perubahan (19). Teori lain yang memperkuat hasil penelitian ini menunjukkan bahwa seiring bertambahnya usia, fungsi hati menurun seiring bertambahnya usia, sehingga risiko toksisitas hati semakin tinggi. Studi lain juga menunjukkan bahwa karena penurunan tingkat pembersihan obat dimetabolisme oleh enzim CYP450, usia mempengaruhi toksisitas hati pasien TB paru dan perunahan aliran darah hepar dan juga ukuran hepar (12).

Faktor status gizi juga memberikan kekuatan hubungan faktor resiko yang besar yang ditunjukkan dengan OR=6,478 (**Tabel 4**). Pasien TB yang mempunyai status gizi kurang akan mengakibatkan resiko mengalami peningkatan 6,478 kali lebih tinggi dibandingkan dengan pasien yang mempunyai status gizi cukup dan juga sebaliknya. Status gizi merupakan hasil kombinasi dari keseimbangan antara nutrisi yang dicerna dari makanan dan kebutuhan nutrisi yang sangat dibutuhkan dalam proses metabolisme tubuh. Kebutuhan asupan zat gizi berbeda pada setiap individu, beberapa faktor yang mempengaruhinya antara lain usia, jenis kelamin, aktivitas tubuh dalam sehari, berat badan (35). Gizi kurang dikaitkan dengan insiden hepatotoksik yang tinggi dan dianggap sebagai salah satu dari faktor-faktor yang berkontribusi pada insiden hepatotoksik tinggi karena asupan nutrisi yang tidak memadai dapat mengganggu keutuhan metabolisme hati dan detoksifikasi OAT

(4). Pada penderita gizi kurang, simpanan glutathione yang habis membuat seseorang rentan terhadap cedera oksidatif. Kondisi hepar pasien yang kekurangan gizi memetabolisme obat dengan lebih lambat. Dalam sebuah penelitian yang dilakukan di India, pasien TB paru dengan status malnutrisi mengalami peningkatan hingga mencapai tiga kali lipat lebih tinggi daripada pasien dengan gizi cukup (36). Kondisi gizi kurang menyebabkan stres oksidatif meningkat, dan status gizi yang buruk secara mencolok berhubungan dengan disfungsi imun (37). Perlemakan hati juga telah ditemukan pada hewan dan manusia yang kekurangan gizi, dengan kemungkinan terkait dengan stres oksidatif dan disfungsi mitokondria. Alasan tersebut menyebabkan malnutrisi mendapat perhatian khusus pada populasi lansia dengan TB (38). Dalam penelitian yang dibuat oleh Vycke Yunivita menunjukkan persamaan pada simpulannya yaitu bahwa dari total 86 rekam medis, diperoleh di antaranya 24 menderita peningkatan kadar transaminase, terutama terjadi pada pasien dengan malnutrisi sebanyak 11 orang (46%) (26).

Kesimpulan

Prevalensi kejadian hepatotoksik (peningkatan kadar transaminase) akibat OAT pasien TB paru di RST Wijayakusuma Purwokerto adalah 23,7% (19 dari 80 pasien). Faktor yang paling berhubungan peningkatan kadar transaminase akibat konsumsi OAT pada pasien TB paru di RST Wijayakusuma Purwokerto adalah usia (OR=8,815) diikuti oleh status gizi (OR=6,478).

Referensi

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor HK.01.07/MENKES/755/2019 Tentang Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran tata Laksana Tuberkulosis. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia 2019 p. 1–9.
2. Gubernur Jawa Tengah. Rencana Aksi Daerah Penanggulangan Tuberkulosis Provinsi Jawa Tengah Tahun 2018-2023. Peraturan Gubernur Jawa Tengah 2018.
3. Firdayanti. Fusvita, Angriani. Umar A. Gambaran Kadar Bilirubin Total pada Penderita Tuberkulosis Paru dengan Terapi Obat Anti Tuberkulosis (Oat) di Puskesmas Poasia Kota Kendari. *J Kesehat Vokasional*. 2019;4(3):118.
4. Ramappa V, Aithal GP. Hepatotoxicity Related to Anti-tuberculosis Drugs: Mechanisms and Management. *J Clin Exp Hepatol*. 2013;3(1):37–49.
5. Annisa, R. Fauzi ZF. Perbedaan Kadar SGPT pada Pasien Tuberkulosis Paru Sebelum dan Sesudah Fase Intensif di Poliklinik Paru RSUD Arifin Achmad Pekanbaru. *J Kesehat Vokasional*. 2019;2:1–10.
6. Edalo AS, Ali AAE, Haj Eltayeb OEE, Khalil YM, Ma Y. Evaluation of the effect of antituberculous drugs on the liver and renal functions' tests in a sudanese cohort. *Asian J Pharm Clin Res*. 2012;5(SUPPL.1):61–3.
7. Luthariana L, Karjadi T, Hasan I, Rumende C. Faktor Risiko Terjadinya Hepatotoksisitas Imbas Obat Antituberkulosis pada Pasien HIV / AIDS. *J Penyakit Dalam Indones*. 2017;4(1):23–8.
8. Vallow H. Treatment of Tuberculosis. Vol. 2, World Health Organization. 2010.
9. Soedarsono S, Riadi ARW. Tuberculosis Drug-Induced Liver Injury. *J Respirasi*. 2020;6(2):49.
10. Pranata J, Mariadi I, Somayana G. Prevalensi dan Gambaran Umum Drug-Induced Liver Injury Akibat Obat Anti Tuberkulosis pada Pasien Tuberkulosis RSUP Sanglah Denpasar Periode Agustus 2016 – Juli 2017. *J Med Udayana*. 2019;8(9).
11. Prabowo RDR. Hubungan antara Peran Pengawas Minum Obat (PMO) dengan Kepatuhan Kunjungan Berobat pada Pasien Tuberculosis Paru (TB Paru) di Puskesmas Nogosari Boyolali. Univ Muhamadiyah Surakarta [Internet]. 2014;1–12. Available from: eprints.ums.ac.id/38799/23/02. Naskah Publikasi.pdf
12. Clarasanti I, Wongkar MCP, Waleleng BJ. Gambaran enzim transaminase pada pasien tuberkulosis paru yang diterapi dengan obat-obat anti tuberkulosis di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *e-CliniC*. 2016;4(1):1–6.
13. Sun Q, Zhang Q, Gu J, Sun W, Wang P, Bai C, et al. Prevalence , risk factors , management , and treatment outcomes of fi rst-line antituberculous drug-induced liver injury: a prospective cohort study. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2016;
14. Chandrasekaran P, Saravanan N, Bethunaickan R, Tripathy S. Malnutrition: Modulator of immune responses in tuberculosis. *Front Immunol*. 2017;8(OCT):1–8.
15. Karim MR, Rahman MA, Mamun SAA, Alam MA, Akhter S. What cannot be measured cannot be done; risk factors for childhood tuberculosis: A case control study. *Bangladesh Med Res Counc Bull*. 2012;38(1):27–32.
16. Yuniar I, Lestari SD. Hubungan Status Gizi dan Pendapatan terhadap Kejadian Tuberkulosis Paru. *J Perawat Indones*. 2017;1(1):18–25.
17. Patiung F, Wongkar MCP, Mandang V. Hubungan Status Gizi Dengan Cd4 Pada Pasien Tb Paru. *e-CliniC*. 2014;2(2).
18. Pandit A, Sachdeva T, Bafna P. Drug-induced hepatotoxicity: A review. *J Appl Pharm Sci*. 2012;2(5):233–43.
19. Zulkarnaini A, Martini RD. Gambaran Polifarmasi Pasien Geriatri Dibeberapa Poliklinik RSUP Dr. M. Djamil Padang. *J Kesehat Andalas*. 2019;8 (Supleme(1S):1–6.
20. Alomar MJ. Factors affecting the development of adverse drug reactions (Review article). *Saudi Pharm J*. 2014;22(2):83–94.
21. Hoofnagle JH, Van Natta ML, Kleiner DE, Clark JM, Kowdley K V., Loomba R, et al. Vitamin e and changes in serum alanine aminotransferase levels in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013;38(2):134–43.
22. Abbasi MA hma., Ahmed N, Suleman A, Zaman H, Tariq S, Anwar SA bba., et al. Common risk factors

- for the development of anti tuberculosis treatment induced hepatotoxicity. *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 2014;26(3):384–8.
23. Wardhana MF, Milanda T, Sumiwi SA. Assessment of Risk Factors of Hepatotoxicity among Tuberculosis Patients. *Pharmacol Clin Pharm Res*. 2018;3(1):10–5.
 24. Jeong I, Song J, Yoon H Il, Lee C-T, Lee J-H. Drug Induced Hepatotoxicity of Antituberculosis Drugs and Their Serum Levels. *J Korean Med Sci*. 2015;30:167–72.
 25. Chalasani NP, Hayashi PH, Bonkovsky HL, Navarro VJ, Lee WM, Fontana RJ. ACG clinical guideline: The diagnosis and management of idiosyncratic drug-induced liver injury. *Am J Gastroenterol*. 2014;109(7):950–66.
 26. Yunivita V, Iqbal M, Suardi AU. Antituberculosis Drug-induced Hepatotoxicity in Pediatric Tuberculosis. *Althea Med J*. 2019;6(3):154–60.
 27. Juliarta IG, Mulyantari NK, Yasa I wayan PS. Gambaran hepatotoksitas (ALT / AST) penggunaan obat antituberkulosis lini pertama dalam pengobatan pasien tuberkulosis paru rawat inap di RSUP Sanglah Denpasar tahun 2014. *E-Jurnal Med*. 2018;7(10):1–10.
 28. Almunirah G, Dewi M, Dharmmika S. Hubungan antara Karakteristik Pasien Tuberkulosis Paru dengan Kelainan Fungsi Hati sebagai Efek Samping Pengobatan Tuberkulosis di BBKPM Bandung pada Tahun 2015-2016. In: *Prosiding Pendidikan Dokter*. 2017. p. 268–74.
 29. Hassen Ali A, Belachew T, Yami A, Ayen WY. Anti-Tuberculosis Drug Induced Hepatotoxicity among TB/HIV Co-Infected Patients at Jimma University Hospital, Ethiopia: Nested Case-Control Study. *PLoS One*. 2013;8(5):1–8.
 30. Ngouleun W, Biapa Nya PC, Pieme AC, Telefo PB. Risk assessment of hepatotoxicity among tuberculosis and human immunodeficiency virus/AIDS-coinfected patients under tuberculosis treatment. *Int J Mycobacteriology*. 2016;5(4):482–8.
 31. Babaik A, Arda H, Bakirci N, Agca S, Oruc K, Kiziltas Ş, et al. Management of and risk factors related to hepatotoxicity during tuberculosis treatment. *Tuberk Toraks*. 2012;60(2):136–44.
 32. Lestari RH, Uwan WB, Raharjo W. Gambaran Kadar Enzim Transaminase Pada Pasien Tuberkulosis Yang Mendapat Terapi Obat Anti Tuberkulosis Di Unit Pengobatan Penyakit Paru-Paru Provinsi Kalimantan Barat. *J Mhs PSPD FK Univ Tanjungpura*. 2019;5(1):2–11.
 33. Handriyati D. Pengaruh Pemberian Obat Anti Tuberkulosis terhadap Kadar Enzim Transaminase pada pasien Tuberkulosis Paru di RSUD Kabupaten Karanganyar tahun 2018 [Internet]. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional; 2020. Available from: <http://librepo.stikesnas.ac.id/488/2/KTI.pdf>
 34. Shafira Z, Sudarwati S, Alam A. Profil Pasien Tuberkulosis Anak dengan Anti-tuberculosis Drug Induced Hepatotoxicity di Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Hasan Sadikin Bandung. *Sari Pediatr*. 2018;19(5):290.
 35. Par'i H, Wiyono S, Harjatmo T. Penilaian Status Gizi. 1st ed. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2017.
 36. Kewalramani MS, Vaishnao LS, Jaiswal KM, Dudhgaonkar S, Khemlal Mahule S, Bhagwat Raghute L. Evaluation of Hepatotoxicity of Anti-Tuberculosis Regimens: A Prospective Study in Tribal Population of Central India. *J Young Pharm*. 2020;12(2):153–7.
 37. Bourke CD, Berkley JA, Prendergast AJ. Immune Dysfunction as a Cause and Consequence of Malnutrition. *Trends Immunol*. 2016;37(6):386–98.
 38. Tsai J, Ferrell LD, Tan V, Yeh MM, Sarkar M, Francisco S, et al. HHS Public Access. *Mod Pathol*. 2017;30(6):834–42.

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 95% Daun Tekelan (*Chromolaena odorata. L*) terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*

Ade Irma Fitrianingsih^{1*}, Rauhul Akbar Kurniawan¹, Ulfa Ersya Putri¹

Artikel Penelitian

Abstract: Indonesia is a tropical country, so the prevalence of infectious diseases caused by bacteria is still high. On the other hand, the intense use of antibacterials in Indonesia causes a tendency to develop bacterial resistance to existing antibacterial drugs. One of the bacterial species that causes infection is *Shigella dysenteriae*. *Chromolaena odorata. L* is a plant that can be used as an antibacterial. This study aims to determine whether the ethanolic extract of *Chromolaena odorata. L* has antibacterial activity against *Shigella dysenteriae* bacteria. *Chromolaena odorata. L* ethanol extract was prepared by maceration method using 95% ethanol extractor solution. The research was conducted by well diffusion method. The results showed the presence of inhibition in bacteria indicated by the average results of measurements of each concentration, namely: 25% (23.6 mm), 50% (25.5 mm), 75% (27.6 mm) and 100% (29.3mm). From the results of the study, it can be concluded that the *Chromolaena odorata. L* have antibacterial activity against the bacteria *Shigella dysenteriae*.

Keywords: antibacterial, *Chromolaena odorata L*, *Shigella dysenteriae*

Abstrak: Indonesia merupakan negara tropis sehingga prevalensi penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri sampai saat ini masih tetap tinggi, di sisi lain penggunaan antibakteri secara intens di Indonesia menyebabkan kecenderungan terjadinya resistensi bakteri terhadap obat antibakteri yang sudah ada. Salah satu spesies bakteri yang menyebabkan infeksi ialah *Shigella dysenteriae*. Tekelan (*Chromolaena odorata. L*) adalah salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun tekelan (*Chromolaena odorata. L*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. Ekstrak etanol daun tekelan dibuat dengan metode maserasi menggunakan larutan penyari etanol 95%. Penelitian dilakukan dengan metode difusi sumuran. Hasil penelitian menunjukkan adanya hambatan pada bakteri ditunjukkan dengan hasil rata-rata pengukuran dari setiap konsentrasi yaitu: 25% (23,6 mm), 50% (25,5 mm), 75% (27,6 mm) dan 100% (29,3 mm). Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa daun tekelan (*Chromolaena odorata. L*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

Kata kunci: antibakteri, *Chromolaena odorata L*, *Shigella dysenteriae*.

¹ Universitas Nahdlatul
Wathan Mataram,
Mataram, Nusa Tenggara
Barat, Indonesia

Korespondensi:

Ade Irma Fitrianingsih
adefitrianingsih80@gmail.com

Pendahuluan

Sejak zaman dahulu hingga saat ini, masyarakat Indonesia mengenal bahkan menggunakan tanaman sebagai obat. Kemampuan meracik tanaman yang berguna sebagai obat didapat berdasarkan pengalaman yang diwariskan secara turun-temurun oleh nenek moyang. Salah satu manfaat penggunaan obat dari tanaman-tanaman tersebut pada manusia adalah sebagai antibakteri (Awoyinka, 2007).

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan secara empiris sebagai antibakteri adalah tekelan (*Chromolaena odorata* L). Tanaman yang dianggap gulma oleh kebanyakan orang ini, dapat ditemukan hampir diseluruh wilayah Indonesia karena pertumbuhannya yang baik apabila cukup menerima sinar matahari. Riset ilmiah telah membuktikan ekstrak daun dari tanaman ini mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, fenol, dan steroid (Vital dan Rivera, 2009).

Penggunaan antibakteri secara intens di Indonesia menyebabkan kecenderungan terjadinya resistensi bakteri terhadap obat antibakteri yang sudah ada. Keadaan resisten ini disebabkan dari berbagai macam faktor mulai dari faktor penderita, faktor obat, dan faktor mikroorganisme itu sendiri (Pratiwi, 2008).

Bakteri patogen pada saluran cerna merupakan golongan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit infeksi pada saluran cerna manusia. Jenis bakteri yang paling sering menyebabkan penyakit infeksi pada saluran cerna adalah bakteri-bakteri famili *Enterobacteriaceae* (Radji, 2013). Salah satu bakteri spesies *Enterobacteriaceae* yang sering menyebabkan infeksi pada saluran cerna manusia adalah *Shigella dysenteriae*.

Shigella dysenteriae merupakan bakteri gram-negatif berukuran $0,5-0,7 \mu\text{m} \times 2-3 \mu\text{m}$. Bentuk morfologi *Shigella dysenteriae* adalah batang pendek atau basil tunggal, tidak berspora, tidak berflagel sehingga tidak bergerak, dan dapat memiliki kapsul. Bentuk morfologi *Shigella dysenteriae* sangat mirip dengan bakteri *Salmonella* (Radji, 2013).

Bahan dan Metode

Bahan

Biakan murni *Shigella dysenteriae*, Disc Ciprofloxacin 5 mg, Ekstrak etanol daun Tekelan, Etanol 95 %, Larutan BaCl_2 1%, Larutan H_2SO_4 1%, Media Na (*Nutrient agar*), Media MHA (*Muller Hinton Agar*), NaCl steril 0,9 % atau PZ, Suspensi bakteri *Shigella dysenteriae* 0,5 unit Mc. Farland.

Alat

Autoklaf, Batang pengaduk, Beaker glass, Blender, Blue tipe, Bunsen, Cawan petri, Inkubator, Jarum ose, Kain kasa steril, Korek api, Labu erlenmeyer, *Laminar air flow* (LAF), Mistar/penggaris, Neraca elektrik, Pipet mikro, Pinset, Pisau, Swab kapas steril, Tabung reaksi, Tissue, Yellow Type.

Metode

Penyiapan Alat

Alat-alat yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat dari kaca dicuci dengan detergen kemudian dibilas dengan air sampai bersih, selanjutnya alat-alat tersebut direndam dalam larutan HCl 1% selama beberapa menit, kemudian dicuci dengan air lalu keringkan di udara terbuka. Setelah itu disterilkan dalam oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Sedangkan untuk pinset dan ose disterilkan dengan cara pemijaran pada api langsung.

Penyiapan Bahan

Daun tekelan dirajang halus kemudian dikeringanginkan, daun ditimbang sebanyak 150 gram, daun yang telah dikeringkan kemudian di haluskan dengan menggunakan blender, lalu direndam (maserasi) dalam pelarut etanol 95% sebanyak 1125 mL selama 7 hari, setiap hari rendaman diaduk sampai merata selama 15 menit agar semua senyawa-senyawa aktif yang terkandung di dalam daun tekelan larut dalam pelarut. Setelah perendaman selesai, kemudian disaring dengan kain flanel. Filtrat yang dihasilkan diuapkan sehingga menghasilkan ekstrak kental, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan siap digunakan sebagai sampel.

Contoh perhitungan pengenceran ekstrak daun tekelan konsentrasi 25%

Konsentrasi ekstrak etanol daun tekelan diperoleh dari pengenceran ekstrak etanol daun tekelan dengan konsentrasi 100%. Volume yang dibuat 5 mL, dengan menggunakan rumus :

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100\% = 5 \text{ mL} \times 25\%$$

$$V_1 \times 100\% = 125$$

$$V_1 = \frac{125}{100}$$

$$= 1,25 \text{ mL}$$

Jadi, dari konsentrasi 100 % diambil 1,25 mL ekstrak etanol daun tekelan ditambah 3,75 mL aquadest steril.

Pembuatan Media MHA (Muller Hinton Agar)

Ditimbang media MHA 34 g dengan menggunakan neraca elektrik, kemudian dilarutkan dalam 1 L aquadest, panaskan sampai larut dan mendidih, selanjutnya dituangkan kedalam masing-masing petridish dengan ketebalan 4 mm dan dibiarkan membeku, disterilkan dalam *autoclaf* pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan Media NA (Nutrient Agar)

Ditimbang media NA 28 g dengan menggunakan neraca elektrik, kemudian

dilarutkan dalam 1 L aquadest, panaskan sampai larut dan mendidih, selanjutnya dituangkan kedalam masing-masing petridish dengan ketebalan 4 mm dan dibiarkan membeku, disterilkan dalam *autoclaf* pada suhu 121°C selama 15 menit.

Peremajaan Bakteri

Diambil bakteri *Shigella dysenteriae* menggunakan ose steril kemudian ditanam pada media (*Nutrient Agar*) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam hingga terjadi pertumbuhan.

Pembuatan Standar Kekeruhan *Mc. Farland*

Standar *Mc. Farland* dibuat dari campuran H_2SO_4 1% dengan BaCl_2 1% dengan perbandingan sebagai berikut (**Tabel 1**).

Pembuatan Suspensi *Shigella dysenteriae* 0,5 Unit *Mc.Farlan*

Diambil satu ujung ose 4-5 koloni bakteri *Shigella dysenteriae* dari biakan murni *Shigella dysenteriae*. Disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 5 mL larutan NaCl 0,9%. Bandingkan dengan standar kekeruhan 0,5 Unit *Mc. Farlan*nd. Setelah kekeruhan sesuai, tanamkan bakteri dalam media cair tersebut pada media pemeriksaan yang digunakan dalam penelitian (MHA).

Tabel 1. *Mc. Farland* Naphelometer Standar (Sumarno, 2000)

No	H ₂ SO ₄ 1% (mL)	BaCl ₂ 1% (mL)	Perkiraan Jumlah Bakteri (juta/mL)
0,5	9,95	0,05	150
1	9,9	0,1	300
2	9,8	0,2	600
3	9,7	0,3	900
4	9,6	0,4	1200
5	9,5	0,5	1500
6	9,4	0,6	1800
7	9,3	0,7	2100
8	9,2	0,8	2400
9	9,1	0,9	2700
10	9,0	1,0	3000

Pengujian Antibiotik (Metode Sumuran)

Disiapkan suspensi murni biakan *Shigella dysenteriae* dengan kepekaan 0,5 Unit Mc. Farland. Disiapkan media MHA (*Muller Hinton Agar*) yang sudah steril dituangkan ke cawan petri dengan ketebalan 4 mm, dibiarkan sampai dingin dan memadat. Dioleskan suspensi bakteri pada permukaan media secara merata menggunakan swab kapas steril, diamkan selama 15 menit. Dibuat sumuran menggunakan biru tip pada permukaan media MHA (*Muller Hinton Agar*). Tambahkan Ekstrak etanol daun tekelan yang telah diencerkan dengan menggunakan aquades pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100 % dan etanol kedalam masing-masing sumuran sebanyak 50 μ L serta disk ciprofloxacin. Diinkubasi pada suasana aerob dengan suhu 37°C selama 24 jam. Lakukan pengamatan adanya zona hambat yang diukur menggunakan penggaris dalam satuan mm.

Hasil dan Diskusi

Data hasil penelitian dari uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Tekelan (*Chromolaena odorata*. L) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dianalisa statistik dengan

menggunakan uji statistik *Shapiro-Wilk* tingkat kepercayaan 95 % ($\alpha = 0.05$) bertujuan untuk mengetahui data hasil penelitian terdistribusi normal atau tidak. Adapun hasil uji *Shapiro-Wilk* dapat dilihat pada tabel berikut (**Tabel 3**).

Tabel 3 menunjukkan bahwa hasil uji *Shapiro-Wilk* pada uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Tekelan (*Chromolaena odorata*. L) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* tidak terdistribusi normal, hal ini dibuktikan dengan nilai probabilitas dari variabel penelitian < 0.05 . Selanjutnya data diuji dengan uji homogenitas varians (*Levene statistic*) untuk mengetahui variabel penelitian bersifat homogen atau tidak.

Tabel 4 menunjukkan bahwa hasil uji homogenitas varians bersifat homogen, terbukti dengan nilai probabilitas > 0.05 , karena data dinyatakan homogen tetapi tidak terdistribusi normal maka tidak dilakukan uji *One Way Anova*. Untuk mengetahui apakah terdapat aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tekelan terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* atau tidak, selanjutnya data di uji dengan uji Non Parametrik *Kruskal Wallis*.

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol 95% daun tekelan (*Chromolaena odorata*. L) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

Perlakuan (t)	Diameter zona hambat (mm)						Total	Mean	Klasifikasi zona hambat
	r1	r2	r3	r4	r5	r6			
t1	24	23	24	24	23	24	142	23,6	Kuat (S)
t2	26	25	26	26	25	25	153	25,5	Kuat (S)
t3	27	28	28	28	27	28	166	27,6	Kuat (S)
t4	29	30	29	29	30	29	176	29,3	Kuat (S)
K (+)	30	30	30	30	30	30	180	30	Kuat (S)
K (-)	0	0	0	0	0	0	0	0	Tidak ada (R)

Keterangan: 1, 2, 3, 4, 5, 6 = Replikasi; t1 = Penambahan ekstrak daun tekelan (*Chromolaena odorata*. L) 25 %; t2 = Penambahan ekstrak daun tekelan (*Chromolaena odorata*. L) 50 %; t3 = Penambahan ekstrak daun tekelan (*Chromolaena odorata*. L) 75 %; t4 = Penambahan ekstrak daun tekelan (*Chromolaena odorata*. L) 100%; K (+)= Kontrol positif (Disk Ciprofloxacin) dengan konsentrasi 5 μ g; K (-) = Kontrol negatif (Aquades steril dan Etanol 95%); S = Sensitif; R = Resisten

Tabel 3. Hasil uji *Shapiro-Wilk* aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Tekelan (*Chromolaena odorata*. L) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*

Perlakuan		Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Zona Hambat (mm)	25%	0.64	6	0.001
	50%	0.683	6	0.004
	75%	0.64	6	0.001
	100%	0.64	6	0.001

Tabel 4. Hasil uji homogenitas varians *Levene statistic* aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Tekelan (*Chromolaena odorata*. L) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Zona Hambat (mm)	Based on Mean	0.208	3	20	0.889
	Based on Median	0.208	3	20	0.889
	Based on Median and with adjusted df	0.208	3	15	0.889
	Based on trimmed mean	0.208	3	20	0.889

Data hasil penelitian dari uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tekelan (*Chromolaena odorata*. L) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dianalisa statistik dengan menggunakan uji statistik *Kruskal Wallis* pada tingkat kepercayaan 95 % ($\alpha = 0.05$) dengan bantuan komputer program SPSS 16. Adapun hasil uji statistik *Kruskal Wallis* dapat dilihat pada tabel berikut (**Tabel 5,6**).

Nilai *Mean Rank* dari keempat konsentrasi berdasarkan hasil uji *Kruskal Wallis* adalah, sebagai berikut : Pada konsentrasi 25% (9,50), konsentrasi 50% (15,50), konsentrasi 75% (21,50), konsentrasi 100% (28,50). Dalam uji *Kruskal Wallis* semakin besar nilai *mean rank* maka semakin besar zona hambat terhadap bakteri. Maka dari keempat konsentrasi tersebut dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 100% (28.50) yang memiliki zona hambat paling luas.

Tabel 5,6 menunjukkan angka asymp.sig. adalah 0,000 lebih kecil dari pada batas kesalahan $\alpha = 0,05$ yang berarti probabilitas $p < \alpha 0,05$ maka hipotesis diterima dan dapat dinyatakan terdapat aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tekelan (*Chromolaena odorata*. L) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri ekstrak etanol 95% daun tekelan terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ditandai dengan terbentuknya daerah bening/jernih disekitar zat uji, yang sejalan dengan penelitian yang sudah dilakukan oleh vital dan rivera pada tahun 2009, pengujian terhadap aktivitas antimikroba menggunakan ekstrak etanol 95% daun tekelan menunjukan hasil positif terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhimurium*. Setiap perlakuan (ekstrak etanol daun tekelan) memiliki respon hambatan pertumbuhan sensitif (kuat) karena memiliki diameter zona hambat > 20 mm dengan hasil sebagai berikut : pada konsentrasi 25% menghasilkan diameter zona hambat dengan rata-rata 23,6 mm, konsentrasi 50% menghasilkan diameter zona hambat dengan rata-rata 25,5 mm, konsentrasi 75% menghasilkan diameter zona hambat dengan rata-rata 27,6 mm dan konsentrasi 100% menghasilkan diameter zona hambat dengan rata-rata 29,3 mm, sehingga dapat diasumsikan efek dari ekstrak etanol daun tekelan memiliki efek yang sama dengan Ciprofloxacin.

Tabel 5. Hasil uji statistik *Kruskal Wallis*

	Perlakuan	N	Mean Rank
Zona Hambat (mm)	25%	6	9.5
	50%	6	15.5
	75%	6	21.5
	100%	6	28.5
	Kontrol Positif	6	32.5
	Kontrol Negatif	6	3.5
	Total	36	

Tabel 6. Hasil uji statistik *Kruskal Wallis*

	Zona Hambat (mm)
Chi-Square	34.214
Df	5
Asymp. Sig.	0

Daun tekelan dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena mengandung senyawa flavonoid, tanin dan saponin yang berkhasiat atau bersifat sebagai antibakteri, yang sejalan dengan penelitian uji antibakteri yang dilakukan oleh ngajow dengan menggunakan ekstrak kulit batang matoa yang mengandung senyawa yang sama yaitu tanin, flavonoid, dan saponin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang memiliki zona hambat 12,5 mm, 14,5 mm, dan 16,84 mm. Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa probabilitas < 0.05 , artinya terdapat aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tekelan terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

Kesimpulan

Terdapat aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tekelan (*Chromolaena odorata*. L) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dilihat dari angka asymp.sig 0,000 lebih kecil dari batas kesalahan α 0,05. Aktivitas antibakteri tertinggi ditunjukkan pada konsentrasi 100% dengan rata-rata zona hambat 29,3 mm dan nilai mean rank 28,50. Rata-rata zona hambat yang dihasilkan pada masing-masing konsentrasi adalah 25% (23,6 mm), 50% (25,5 mm), 75% (27,6 mm) dan 100% (29,3 mm).

Referensi

1. Awoyinka. 2007. *Tanaman Tradisional Sebagai Antibakteri Untuk Pengobatan*. Penebar Swadaya : Jakarta.
2. Pratiwi, Sylvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga
3. Radji M. 2013. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
4. Sumarno. 2000. *Teknik Dasar Pemeliharaan Mikroba*. Intan Prawira: Jakarta.
5. Vital P.G and Rivera W.L. 2009. Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of *Chromolaena odorata* (L) King and Robinson and *Uncaria Perrottetii* (A.Rich) Merr. Extracts Available Online at (<http://www.academicjournal.org/JMPR>. *Jurnal of Medicinal Plant Research* vol. 3 (7), PP. 511-518.

Studi *Molecular Docking* Senyawa Diterpen Abieten terhadap Enzim Protease Utama (M^{pro}) Virus Corona

Hilwan Yuda Teruna^{1*}, Kamal Rullah², Fajri Khatami¹

Artikel Penelitian

Abstract: Coronavirus disease or Covid-19 is a disease caused by a new type of coronavirus, SARS-CoV-2. This disease discovered for the first time in Wuhan, China and has now become a pandemic to the world. This study aims to find compounds that have a potential to inhibit the main protease enzyme (M^{pro}) of the coronavirus (PDB ID: 6LU7 and 2GTB) through a computational molecular docking modeling approach to abietane diterpenoid derivatives. The molecular docking study was carried out using Autodock4 software and visualized using PyMOL and Discovery Studio. Method validation or redocking showed good accuracy with a root mean square deviation (RMSD) value of 1.85 Å for the 6LU7 enzyme and 1.92 Å for the 2GTB enzyme. The molecular docking study of 3 derivatives of abietane diterpenoid (6-acetyl-7-hydroxyroileanone, 7-hydroxyroileanone and another abieten (CH-6)) showed the binding energy values were -9.07; -8.22 and 7.94 kcal/mol, for enzyme 2GTB showed the binding energy values were -9.54; -9.14; -8.26 kcal/mol. These results indicate the 6-acetyl-7-hydroxyroileanone and 7-hydroxyroileanone compounds have a stronger affinity for the main protease enzyme (M^{pro}) and the main peptidase enzyme compared to the original ligand which have binding energy of -7.38 and -7.97 kcal/mol. In addition, the type of hydrogen bond in 6-acetyl-7-hydroxyroileanone has 6 bonds which are the same as the hydrophilic bond in the native ligand. This research predicted that the 6-acetyl-7-hydroxyroileanone compound can be used as an inhibitor of the Covid-19 main protease enzyme (M^{pro}) and main peptidase enzyme SARS-CoV that has strained previously.

Keywords: Covid-19, main protease enzymes, molecular docking.

Abstrak: Coronavirus disease atau Covid-19 merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh virus corona jenis baru yaitu SARS-CoV-2. Penyakit ini pertama kali ditemukan di Wuhan, China dan saat ini telah menjadi pandemi yang sudah menyebar hampir ke seluruh negara di dunia. Salah satu enzim yang berperan penting dalam memediasi replikasi dan transkripsi pada virus SARS-CoV-2 adalah enzim protease utama (M^{pro}). Penelitian ini bertujuan untuk menemukan senyawa yang berpotensi menghambat enzim protease utama (M^{pro}) virus corona (PDB ID: 6LU7 dan 2GTB) melalui studi *molecular docking* pada senyawa turunan diterpen abieten. Studi *molecular docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak Autodock4 dan divisualisasi menggunakan PyMOL dan Discovery studio. Validasi metode atau *redocking* menunjukkan akurasi yang baik dengan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) sebesar 1,85 Å pada enzim 6LU7 dan 1,92 Å pada enzim 2GTB. Studi *molecular docking* enzim 6LU7 pada 3 senyawa turunan diterpen abieten (6-asetil-7-hidroksiroileanon, 7-hidroksiroileanon dan diterpenoid glukosida (CH-6)) menunjukkan nilai energi ikatan masing-masing sebesar -9,07; -8,22 dan 7,94 kcal/mol, pada enzim 2GTB menunjukkan nilai -9,54; -9,14; -8,26 kcal/mol. Hasil ini menunjukkan senyawa 6-asetil-7-hidroksiroileanon dan 7-hidroksiroileanon memiliki afinitas lebih kuat terhadap enzim protease utama (M^{pro}) dan enzim peptidase utama dibandingkan dengan kontrol positif yang mempunyai energi ikatan sebesar -7,38 dan -7,97 kcal/mol. Selain itu, senyawa yang memiliki afinitas paling kuat yaitu 6-asetil-7-hidroksiroileanon memiliki 6 ikatan hidrogen yang sama dengan ligan asli dalam situs aktif enzim protease utama (M^{pro}). Sehingga, diprediksi senyawa 6-asetil-7-hidroksiroileanon mampu dijadikan sebagai inhibitor pada enzim protease utama (M^{pro}) Covid-19 maupun pada enzim peptidase utama SARS-CoV dari *strain* sebelumnya.

Kata kunci: Covid-19, enzim protease utama, *molecular docking*.

¹ Department of Chemistry,
FMIPA, Universitas Riau,
Pekanbaru 28281, Indonesia

² Department of
Pharmaceutical Chemistry,
Kulliyah of Pharmacy,
International Islamic
University Malaysia, Bandar
Indera Mahkota, Kuantan,
Pahang, Malaysia

Korespondensi:

Hilwan Yuda Teruna
hyteruna@lecturer.unri.ac.id

Pendahuluan

Coronavirus disease atau penyakit yang biasa dikenal dengan sebutan COVID-19, saat ini menjadi pusat perhatian bagi dunia. Penyakit yang disebabkan oleh virus corona jenis baru ini (SARS-CoV-2), dilaporkan pertama kali ditemukan di Wuhan, Tiongkok pada bulan Desember 2019 (1). Menurut WHO (2020), pada tanggal 10 Juni 2020 kasus COVID-19 secara global telah meningkat menjadi 7.145.539 kasus dan 408.025 diantaranya dilaporkan meninggal dunia. Sementara, di Indonesia sudah tercatat sebanyak 33.076 kasus, 1.923 orang diantaranya dilaporkan meninggal dunia dan 12.129 dinyatakan sembuh (2).

Salah satu metode untuk memprediksi aktivitas suatu senyawa terhadap enzim pada virus adalah melalui studi *molecular docking*. Studi *molecular docking* merupakan strategi *structure-based drug design* untuk menentukan interaksi yang terjadi antara ligan atau senyawa uji terhadap sel atau protein target melalui perkiraan interaksi ligan-protein berikatan, dengan harapan memiliki afinitas yang kuat (3). Studi *molecular docking* pada virus corona memiliki beberapa target farmakologi, diantaranya berupa enzim protease, helicase, polimerase dan immunomodulator seperti interferon dan kortikosteroid (4).

Enzim protease merupakan target umum yang terkenal dalam mendesain obat virus yang menyerang manusia, seperti seperti virus HIV dan virus hepatitis C. Inhibitor enzim protease juga telah terbukti efektif dalam menghambat replikasi coronavirus, termasuk penyakit yang disebabkan oleh virus corona jenis lainnya, seperti SARS dan MERS (5). Menurut Jin *et al* (2020), enzim protease utama (M^{pro}) memiliki peran penting dalam memediasi replikasi dan transkripsi pada virus corona. Penelitian yang dilakukan Jin, mengidentifikasi obat COVID-19 berdasarkan M^{pro} sebagai target utama (reseptor) dengan bantuan desain obat secara komputasi. Hasil dari penelitian ini berupa struktur kristal protein kompleks dari M^{pro} SARS-CoV-2 dengan inhibitor N3, sehingga memberikan peluang peneliti untuk menemukan inhibitor lain dari M^{pro} pada virus corona (6).

Menurut Nothias-Scaglia *et al.*, (2015), senyawa metabolit sekunder jenis diterpen yang diisolasi dari bahan alam (spesies *Euphorbiaceae*) memiliki aktivitas yang baik terhadap uji antiviral pada virus chikungunya dan replikasi HIV. Penelitian ini menunjukkan senyawa phorbol-12,13-didecanoate merupakan inhibitor paling baik terhadap replikasi virus chikungunya dengan nilai EC_{50} $6,0 \pm 0,9$ nM dan indeks selektivitas (SI) 686. Selain itu, senyawa diterpen ini juga menghambat replikasi HIV, uji penelitian ini dilakukan pada beberapa senyawa 4-hydroxyphorbol dan diterpen ester tipe *ingenane* yang terbukti menghambat replikasi HIV secara *in vitro* pada tingkat nanomolar (7). Penelitian yang dilakukan oleh Wen *et al.*, (2007) juga menunjukkan bahwa senyawa diterpen jenis abieten memiliki aktifitas yang baik sebagai anti viral pada SARS, hanya saja aktivitas tersebut tampaknya tidak melibatkan aksi pada protease 3CL karena tidak ada penghambatan protease 3CL yang diamati (8). Berdasarkan struktur penyusunnya, gugus fungsi yang berperan dalam penghambatan kerja enzim protease adalah gugus hidroksil, dimana oksigen pada gugus hidroksil akan membentuk ikatan hidrogen dengan enzim atau reseptor. Oleh sebab itu, bagaimana mekanisme molekuler senyawa ini bekerja perlu diselidiki lebih lanjut.

Saat ini belum ada obat atau agen terapi yang efektif untuk pengobatan penyakit yang disebabkan oleh virus corona. Salah satu upaya untuk pengobatan penyakit SARS yang juga disebabkan oleh virus corona jenis lainnya adalah dengan menggunakan obat herbal alami (9). Pengobatan herbal yang menggunakan senyawa bahan alam sebagai agen inhibitor pada virus corona lainnya terbukti memiliki aktivitas sebagai antivirus, hanya saja belum diketahui dengan pasti mekanisme dari pengobatannya (10).

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian untuk menemukan inhibitor dari protein M^{pro} SARS-CoV-2 maupun enzim peptidase utama pada *strain* SARS-CoV sebelumnya menggunakan senyawa bahan alam sebagai ligannya. Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari Hazimah (2012) dan Syari (2019) yang telah mengisolasi dan melakukan uji bioaktivitas toksisitas dan

antioksidan pada senyawa turunan diterpen abieten. Hasil uji bioaktivitas senyawa diterpen abieten ini cukup baik sebagai antibakteri, antioksidan dan uji toksisitas. Pada penelitian ini, senyawa yang telah diisolasi oleh peneliti sebelumnya akan dilakukan studi *molecular docking* pada enzim M^{pro} SARS-CoV-2 dan enzim peptidase SARS-CoV untuk memprediksi aktivitasnya sebagai inhibitor, serta melakukan analisa *lipinski's rule of five* pada ligan yang digunakan. Aktivitas dari senyawa ini diidentifikasi berdasarkan energi ikatan (kcal/mol) dan interaksi ligan-reseptor.

Metodologi Penelitian

Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan berupa ligan dan reseptor. Adapun ligan yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa turunan diterpen abieten, yaitu 6-asetil7-hidroksiroileanon dan 7-hidroksiroileanon yang diisolasi dari tanaman *Plectranthus amboinicus* oleh Hazimah *et al.*, (2013) (10) dan senyawa diterpenoid glukosida (CH-6) yang diisolasi dari tanaman Miana merah atau *Coleus hybridus* oleh Syari *et al.*, (2018) (11).

Struktur 3D reseptor yang digunakan dalam penelitian ini diunduh pada situs Protein data bank (PDB) dengan PDB ID: 6LU7 (struktur kristal protease covid-19 dengan inhibitor N3) dan 2GTB (struktur kristal peptidase utama SARS).

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat *notebook* MSI GF63 dengan spesifikasi: *Processor* Intel Core i7-9750H CPU @ 2.60GHz dengan *Random Acces Memory* (RAM) 8 GB. Perangkat lunak yang digunakan antara lain *MGL Tools* (meliputi *AutoDock Tools* 1.5.6 dan *AutoDock4*), *PyMol* 2.4.0, *Discovery Studio* 2020 dan *ChemDraw Ultra* 12.0.

Pembuatan Folder Kerja Autodock4

Folder kerja *Molecular docking* dibuat pada *desktop*. Selanjutnya aplikasi *AutoDock4* dan perangkat penunjang (*Autogrid4.exe*, *AutoDock4.exe*, *AD4.1_bound.dat* dan *AD4_parameters.dat*) ditambahkan pada folder

kerja. Berkas ini diambil pada folder aplikasi *AutoDock4*.

Pengunduhan Reseptor

Struktur 3D reseptor yang digunakan, protein 6LU7 dan 2GBT diunduh pada situs protein data bank (PDB) (<https://www.rcsb.org/>). Struktur 3D protein diunduh dengan format berkas “.pdb”. Berkas kemudian disimpan pada folder kerja.

Pemisahan Ligan Alami dengan Reseptor

Berkas struktur 3D dari reseptor dibuka pada lembar kerja *Studio Discovery* 2020. Molekul air dan molekul lain yang tidak digunakan pada proses *molecular docking* dihapus terlebih dahulu. Kemudian, ligan alami yang terikat pada reseptor dipisahkan dengan cara menghapus ligan alami dari reseptor, reseptor kemudian disimpan dengan format “.pdb”. Selanjutnya, undo proses pemisahan dan hapus reseptor. Ligan alami kemudian disimpan dengan format berkas “.pdb”. Ligan alami ini nantinya akan digunakan untuk validasi metode atau *redocking*.

Validasi Metode atau Redocking

Ligan asli dan reseptor yang telah dipisahkan dibuka pada lembar kerja *AutoDock tools* 1.5.6.. Selanjutnya, preparasi ligan dilakukan untuk minimalisasi energi. *Charge “Compute Gasteger Charge”* digunakan dan hidrogen polar ditambahkan pada proses minimalisasi energi ligan. Ligan yang telah dipreparasi disimpan pada folder kerja dengan nama “*ligand.pdbqt*”. Kemudian preparasi reseptor dilakukan, *charge “kollman charge”* digunakan dan hidrogen polar ditambahkan pada struktur reseptor. Reseptor yang telah dipreparasi disimpan pada folder kerja dengan nama “*protein.pdbqt*”.

Reseptor dan ligan yang telah dipreparasi dibuka pada lembar kerja *AutoDock tools* 1.5.6 untuk dibuat parameter *gridbox*. *Gridbox* diatur posisinya pada tengah ligan. Parameter *gridbox* dapat dilihat pada **Gambar 1**. Berkas *grid* disimpan pada folder kerja dengan format “*dock.gpf*”. Parameter *gridbox* ini disimpan dan digunakan untuk *molecular docking* ligan yang akan diuji.

Simulasi *docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak *AutoDock4* yang diatur menggunakan *AutoDock tools* dan dijalankan

menggunakan Command prompt. Parameter *docking* diatur menggunakan parameter “Genetic Algorithm”, *number of GA runs* dibuat sebanyak 100 kali interaksi ligan-reseptor dan pengaturan parameter diatur secara *default*, pengaturan parameter *docking* dapat dilihat pada **Gambar 2**. *Output* dari simulasi *docking* disimpan berdasarkan pengaturan Lamarckian GA (4.2). Berkas parameter *docking* disimpan pada folder kerja dengan format “dock.dpf”.

Simulasi *docking* dijalankan menggunakan command prompt. Hasil simulasi *docking* secara otomatis disimpan pada lembar kerja dengan format “dock.dlg”.

Analisis Hasil Simulasi Docking atau Redocking

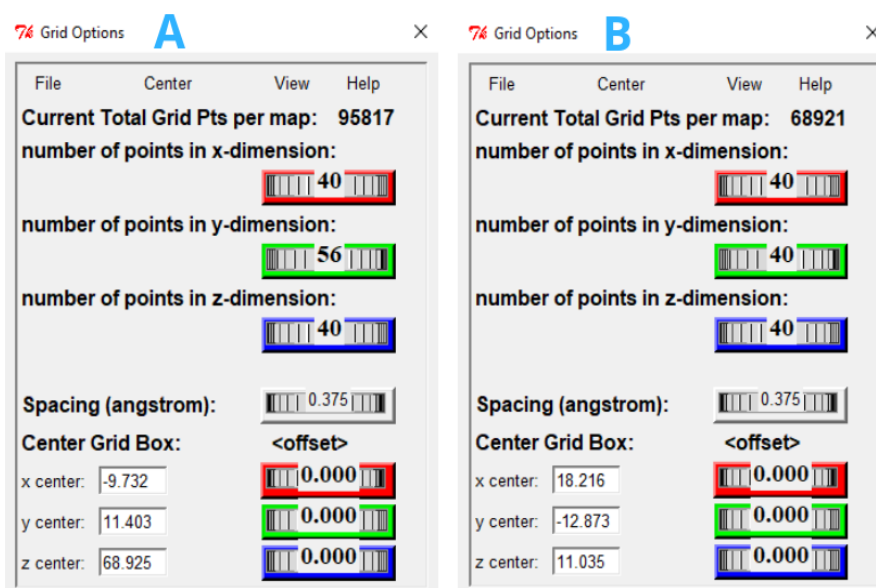
Analisis hasil simulasi *docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak AutoDock tools, PyMOL dan Discovery Studio. Berkas “dock.dlg” dibuka menggunakan perangkat lunak NotePad++ untuk melihat data simulasi *docking*, seperti konformasi ligan terbaik, nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) dan *binding energy*. RMSD yang diinginkan <2. Ligan dengan konformasi dan RMSD terbaik, disimpan bentuk

3Dnya menggunakan AutoDock tools. Interaksi ligan-reseptor divisualisasi secara 3 dimensi dan 2 dimensi menggunakan perangkat lunak Discovery Studio untuk melihat jenis dan energi ikatan.

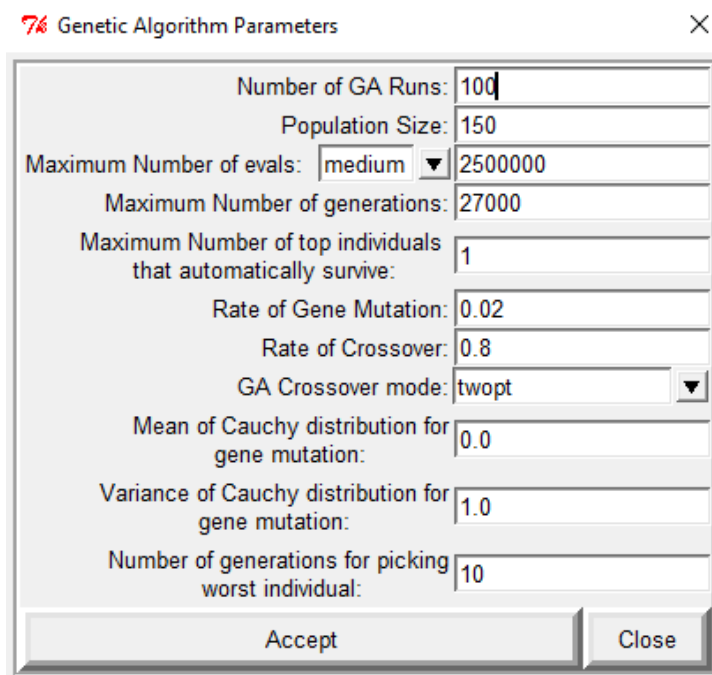
Molecular Docking Senyawa Diterpen Abieten Sebagai Ligan

Struktur senyawa diterpen abieten yang digunakan sebagai ligan pada penelitian ini digambar menggunakan perangkat lunak ChemDraw Ultra 12.0. dan diubah menjadi bentuk 3D menggunakan Chem3D Pro 12.0. berkas disimpan dengan format “.pdb”. Preparasi ligan pada *molecular docking* dilakukan sesuai prosedur pada preparasi ligan asli saat validasi metode atau *redocking*.

Protein yang digunakan pada *molecular docking* ini adalah protein yang sudah dipreparasi pada saat validasi metode, parameter *grid* dan parameter *docking* disesuaikan dengan validasi metode. *Molecular docking* dijalankan menggunakan command prompt. Hasil *molecular docking* divisualisasi menggunakan Discovery studio.



Gambar 1. Gridbox reseptor 6LU7 (A), gridbox reseptor 2GTB (B).



Gambar 2. Parameter docking menggunakan pengaturan Genetic Algorithm dengan number of GA runs : 100 pose.

Analisa Lipinski's Rule of Five

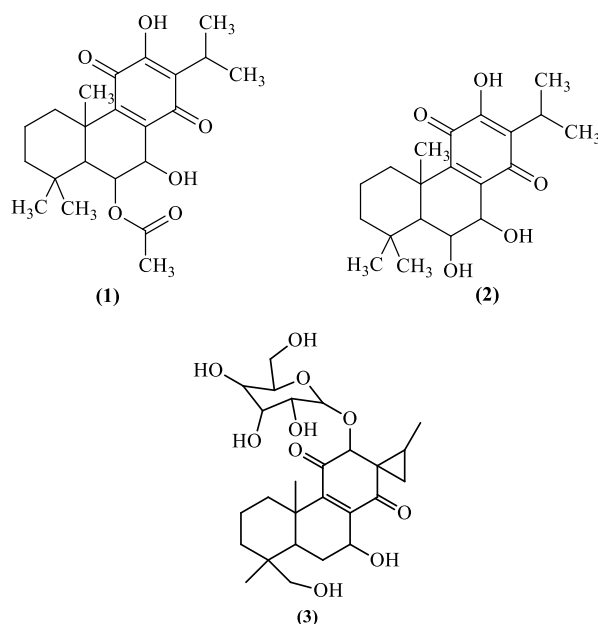
Lipinski's Rule of five ditentukan untuk memprediksi aktivitas obat yang aktif secara oral. Kriteria *Lipinski's rule of five* terdiri dari berat molekul kurang dari 500, log P kurang dari 5, jumlah hidrogen donor kurang dari 5 gugus, dan jumlah akseptor donor kurang dari 10 gugus. Aturan tersebut dianalisa pada ligan dengan menggunakan aplikasi pada website <http://www.molinspiration.com>.

Hasil dan Diskusi

Pada penelitian ini telah dilakukan studi molecular docking pada enzim protease utama (Mpro) dan enzim peptidase utama virus corona yaitu protein 6LU7 dan 2GTB, menggunakan ligan dari senyawa bahan alam turunan diterpen abieten yaitu 6-asetil-7-hidroksiroileanon (1), 7-hidroksiroileanon (2) dan diterpenoid glukosida (CH-6) (3) yang telah diisolasi oleh peneliti sebelumnya (Hazimah, 2012 dan Syari, 2019). Adapun alasan penggunaan senyawa ini sebagai ligan adalah dikarenakan senyawa ini merupakan senyawa golongan diterpen abieten yang mana pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa golongan memiliki bioaktivitas sebagai

antiviral pada penyakit SARS, yaitu penyakit yang juga disebabkan oleh virus corona jenis lainnya (8). Berdasarkan struktur penyusun senyawanya, senyawa ini mengandung gugus fungsi hidroksil (OH) dan karbonil (CO) yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan sisi aktif reseptor sehingga mampu menghambat kerja reseptor, dalam hal ini enzim protease akan terganggu dalam proses replikasi akibat ikatan hidrogen antara ligan dan sisi aktif reseptor.

Studi *molecular docking* pada virus corona memiliki beberapa target farmakologi, diantaranya berupa enzim protease, helicase, polimerase dan immunomodulator seperti interferon dan kortikosteroid (4). Terapi yang dilakukan untuk menemukan anti-SARS dapat menargetkan beberapa langkah utama dalam siklus hidup virus, seperti interaksi sel-virus, masuknya virus ke dalam inangnya dan replikasi virus intraseluler (13). Pada penelitian ini penelitian berfokus pada replikasi virus intraseluler. Adapun studi *molecular docking* dijalankan menggunakan perangkat lunak AutoDock4 dan hasil *molecular docking* divisualisasi menggunakan perangkat lunak PyMOL dan Discovery Studio.



Gambar 3. Struktur senyawa diterpen abieten: 6-asetil7-hidroksiroileanon **(1)**, 7-hidroksiroileanon **(2)** dan diterpenoid glukosida (CH-6) **(3)**

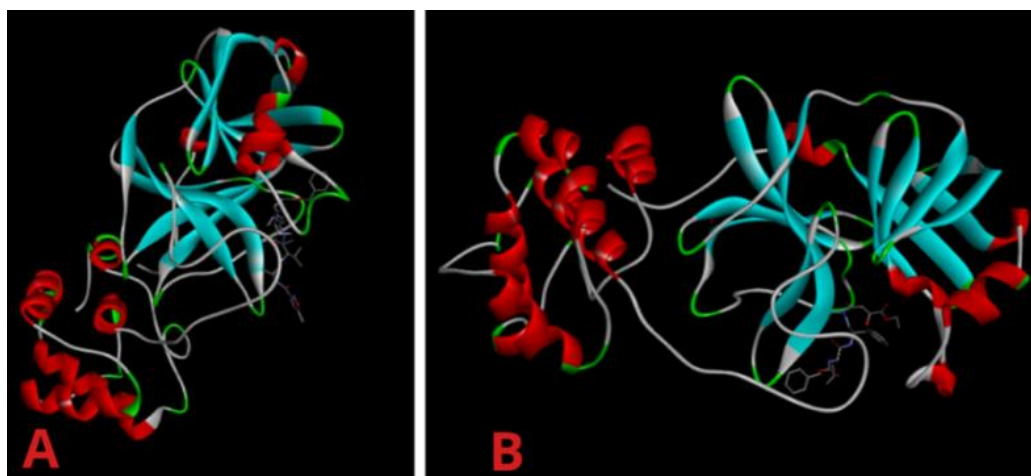
Molekul target yang digunakan pada penelitian ini adalah enzim protease utama (M^{pro}). M^{pro} merupakan target umum yang terkenal dalam mendesain obat virus yang menyerang manusia, seperti seperti virus HIV dan virus hepatitis C. Inhibitor enzim protease telah terbukti efektif dalam menginhibisi replikasi coronavirus, termasuk penyakit yang disebabkan oleh virus corona jenis lainnya, seperti SARS dan MERS. Sehingga penemuan inhibitor pada M^{pro} akan menjadi dasar yang menjanjikan untuk pengembangan terapi antivirus corona. Hal ini disebabkan, karena *sequencing* pada SARS-CoV-19 menunjukkan kesamaan sebesar 96% jika dibandingkan dengan SARS-CoV sebelumnya (5).

Struktur 3D dari reseptor yang digunakan pada penelitian ini diunduh pada situs protein data bank (PDB) dengan PDB ID : 6LU7 dan 2GTB. Bentuk struktur dari enzim ini dapat dilihat pada **Gambar 4**. Alasan pemilihan reseptor disebabkan karena protein ini merupakan enzim protease utama yang berperan aktif dalam memediasi replikasi dan transkripsi pada virus SARS-CoV-2 (6), sedangkan enzim peptidase utama merupakan suatu enzim yang berperan dalam replikasi *strain* virus corona sebelumnya (14).

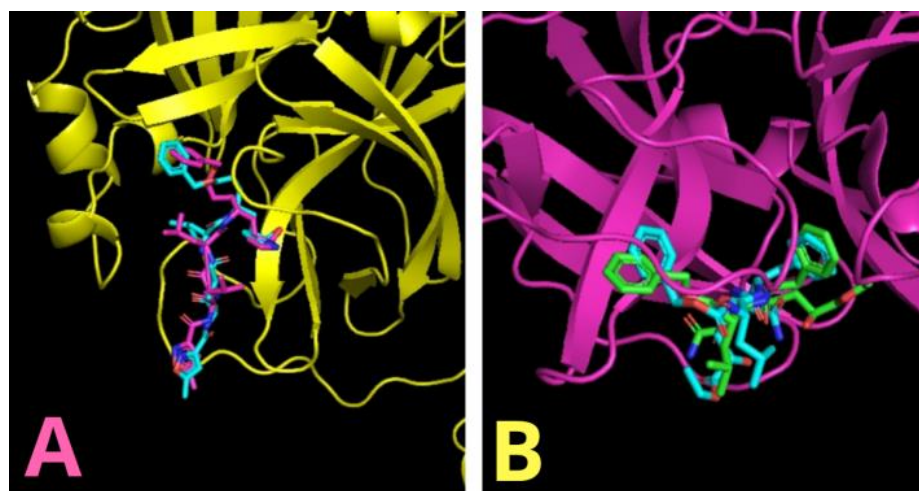
Sebelum dilakukan studi *molecular docking* pada senyawa turunan diterpen abieten, resptor 6LU7 dan 2GTB *diredocking* menggunakan ligan aslinya (inhibitor N3 dan inhibitor AZP) untuk memvalidasi metode yang akan digunakan pada studi *molecur docking*. Selain itu, hasil *redocking* ini juga dijadikan sebagai kontrol positif.

Nilai RMSD pada validasi metode atau *redocking* $<2 \text{ \AA}$ menunjukkan akurasi metode yang cukup baik untuk digunakan sebagai studi *molecular docking* (16). Maksudnya, semakin kecil RMSD suatu konformasi ligan, maka konformasi ligan tersebut semakin menyerupai bentuk konformasi ligan sebenarnya yang terikat pada reseptor (hasil XRD), sehingga saat dilakukan *molecular docking*, ligan akan berinteraksi tepat dengan sisi aktif reseptornya.

Menurut Liu & Wang, (2020), asam amino pada enzim protease utama (M^{pro}) yang diprediksi berinteraksi dengan ligan atau molekul obat adalah asam amino jenis GLU166, CYS44, CYS145, SER144 dan MET49. Sedangkan dari molekul ligan, gugus fungsi sangat berpengaruh untuk membentuk kompleks dengan reseptor melalui ikatan hidrogen.



Gambar 4. Struktur 3D Reseptor Covid-19 yang divisualisasi menggunakan perangkat lunak Discovery studio, Protein 6LU7 kompleks inhibitor N3 (A) dan protein 2GTB kompleks inhibitor AZP (B).



Gambar 5. RMSD validasi metode. Visualisasi RMSD 6LU7 dengan nilai 1,85 Å, ligan biru merupakan ligan sebelum dilakukan redocking dan ligan merah muda merupakan ligan setelah diredocking (A). Visualisasi RMSD 2GTB dengan nilai 1,92 Å, ligan hijau merupakan ligan sebelum dilakukan redocking dan ligan biru merupakan ligan setelah diredocking (A).

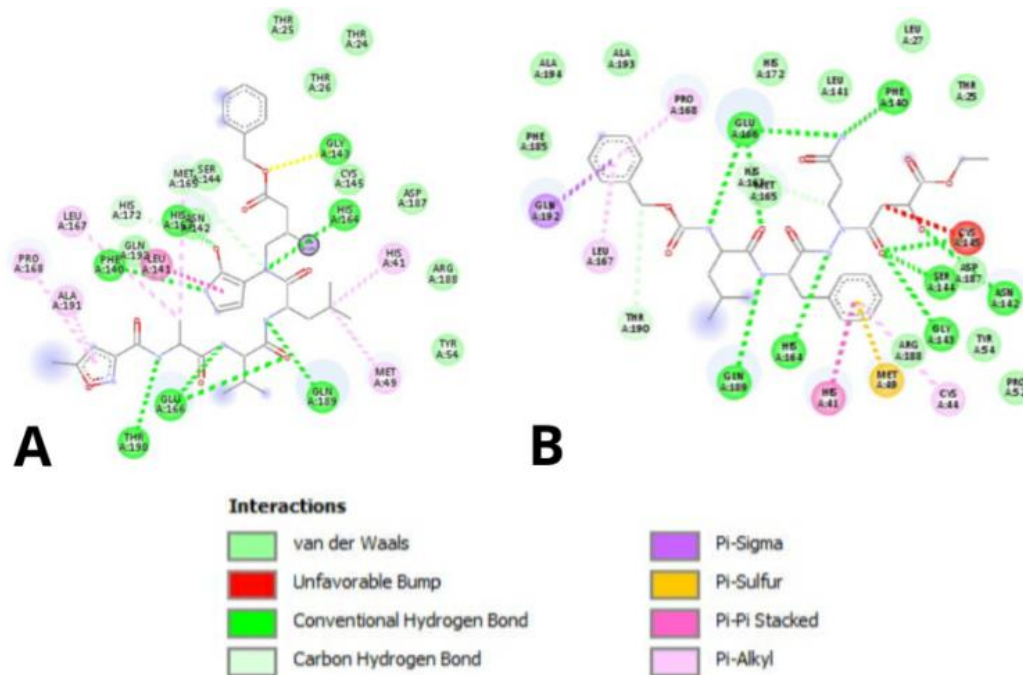
Biasanya gugus fungsi yang sangat berpengaruh dalam interaksi ligan-reseptor adalah gugus hidroksi (-OH), gugus keton (=O), gugus asetil (-COO-), dan gugus eter (-O-). Hal ini dipengaruhi oleh atom O yang dapat membentuk ikatan hidrogen. Selain itu ligan yang mengandung senyawa halogen biasanya juga memberikan interaksi yang baik dengan reseptornya (15).

Hasil validasi metode atau *redocking* reseptor 6LU7 dan 2GTB (dapat dilihat pada **Tabel 1**) menunjukkan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) masing-masing sebesar 1,85 dan 1,92 Å (dapat dilihat pada **Gambar 5**) dan energi ikatan

sebesar -7,39 dan -8,26 (kcal/mol). Hasil ini menunjukkan bahwa nilai RMSD dapat diterima dan konformasi ligan setelah *diredocking* menunjukkan kemiripan dengan konformasi ligan sebelum *didocking*. Hasil energi ikatan menunjukkan nilai yang cukup kecil, sehingga interaksi senyawa dengan reseptor diprediksi cukup stabil dalam membentuk ikatan. Selanjutnya, interaksi inhibitor N3 dengan reseptor 6LU7 menunjukkan adanya ikatan hidrogen yang terjadi antara ligan dan reseptor pada asam amino GLU166, GLY143, HIS164, HIS163, PHE140, THR190 dan GLN189.

Tabel 1. Hasil *redocking* reseptor Covid-19

Redocking protein	RMSD (Å)	Energi ikatan (kcal/mol)
6LU7	1,85	-7,39
2GTB	1,92	-8.26



Gambar 6. Bentuk 2D interaksi ligan alami dengan reseptor yang ditampilkan dengan Discovery Studio. Interaksi ligan alami (inhibitor N3)-reseptor 6LU7 (A). Interaksi ligan alami (inhibitor AZP)-reseptor 2GTB (B).

Sedangkan pada inhibitor AZP dengan reseptor 2GTB menunjukkan ikatan hidrogen pada asam amino GLU166, PHE140, GLN189, HIS164, GLY143, SER144, ASN142 dan CYS145. (dapat dilihat pada **Gambar 6**, **tabel 2** dan **tabel 3**).

Hal ini menunjukkan kesesuaian dengan teori yang dijelaskan oleh peneliti sebelumnya, dimana senyawa akan berinteraksi membentuk ikatan hidrogen dengan reseptornya pada asam amino GLU166, CYS145, dan SER144. Adapun gugus fungsi yang membentuk ikatan pada reaksi ini adalah gugus fungsi hidroksil (OH), karbonil (CO) dan gugus fungsi keton (-O-).

Hasil *molecular docking* senyawa turunan diterpen abieten dengan reseptor 6LU7 dan 2GTB dapat dilihat pada **Tabel 4**, sedangkan interaksi ligan-reseptor pada studi *molecular docking* ini dapat dilihat pada **Tabel 5** dan **Tabel 6** serta

visualisasi 2D pada **Gambar 7** dan **Gambar 8**. Studi *molecular docking* menunjukkan ketiga senyawa turunan diterpen abieten memiliki kemampuan membentuk kompleks yang cukup baik dengan reseptor 6LU7 dan 2GTB, dimana masing-masing nilai energi ikatannya: -9,01; -8,22; -7,94 kcal/mol dan -9,54; -9,15; -8,26 kcal/mol. Dari data tersebut menunjukkan bahwa energi ikatan ligan yang *didocking* memiliki nilai energi ikatan yang lebih kecil, sehingga diprediksi bahwa ligan mampu berinteraksi dengan baik dengan reseptor seperti ligan alami. Energi ikatan merupakan energi yang dibutuhkan ligan untuk berinteraksi (ikatan) dengan reseptor pada sisi aktifnya. Semakin kecil harga energi ikatan maka semakin spontan dan stabil ikatan ligan dengan reseptor untuk membentuk kompleks.

Tabel 2. Jenis interaksi ligan alami (inhibitor N3)-reseptor 6LU7

No	Jenis Ikatan	Interaksi	Jarak (Å)
1	Hidrogen	GLU166, GLY143, HIS164, PHE140, HIS163, GLU166, THR190, GLN189	2,97927; 2,86529; 2,80304; 3,18679; 2,36734; 2,83433; 2,84976; 2,88951
2	Van der Waals	HIS172, MET165	3,7244; 3,6921
3	Alkil	MET49, ALA191, PRO168, LEU167, HIS41, MET165	4,73045; 4,53889; 4,84869; 5,46094; 4,26542; 4,57008

Tabel 3. Jenis interaksi ligan alami (inhibitor AZP)-reseptor 2GTB

No	Jenis Ikatan	Interaksi	Jarak (Å)
1	Hidrogen	GLY143, SER144, CYS145, GLU166, GLU166, GLN189, HIS164, PHE140, GLU166, ASN142, THR190	2,79412; 3,1738; 3,18462; 2,83378; 3,14382; 3,08682; 2,65257; 3,38481; 2,90501; 3,20585; 3,79841
2	Karbon-hidrogen	HIS163	3,43955
3	Phi-sigma	GLN192	3,36665
4	Phi-phi	HIS41	4,25717
5	Van der Waals	LEU167, PRO168, CYS44	4,6553; 4,38807; 5,3719

Tabel 4. Hasil *molecular docking* reseptor Covid-19 menggunakan ligan asli dan ligan dari 3 senyawa diterpen abieten.

Protein	Ligan	Energi ikatan (kcal/mol)
6LU7	Inhibitor N3 (ligan asli)	-7,39
	6-asetil7-hidroksiroileanon	-9,01
	7-hidroksiroileanon	-8,22
	diterpenoid glukosida (CH-6)	-7,94
2GTB	Ligan AZP	-8,26
	6-asetil7-hidroksiroileanon	-9,54
	7-hidroksiroileanon	-9,14
	diterpenoid glukosida (CH-6)	-8,26

Berdasarkan energi ikatan, maka senyawa 6-asetil7-hidroksiroileanon merupakan senyawa yang paling baik kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan reseptor.

Berdasarkan interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor, masing-masing ligan membentuk interaksi yang mirip dengan interaksi ligan alami dan reseptor. Dimana masing-masing ligan membentuk interaksi ikatan hidrogen yang sama dengan asam amino yang juga berinteraksi dengan ligan alami, yaitu pada asam amino GLU166, HIS163, GLN189. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa 6-asetil7-

hidroksiroileanon merupakan senyawa yang paling baik dalam berinteraksi dengan reseptor, karena memiliki kemiripan interaksi yang paling banyak jika dibandingkan dengan ligan lainnya.

Berdasarkan jarak ikatannya, senyawa 6-asetil7-hidroksiroileanon membentuk ikatan yang cukup kuat atau medium dengan reseptor 6LU7, sedangkan pada reseptor 2GTB terbentuk ikatan yang kuat.

Pada penelitian ini juga dilakukan uji *Lipinski's Rule of five* untuk mengevaluasi aktifitas farmakologi dari ligan.

Tabel 5. Interaksi ligan-reseptor 6LU7

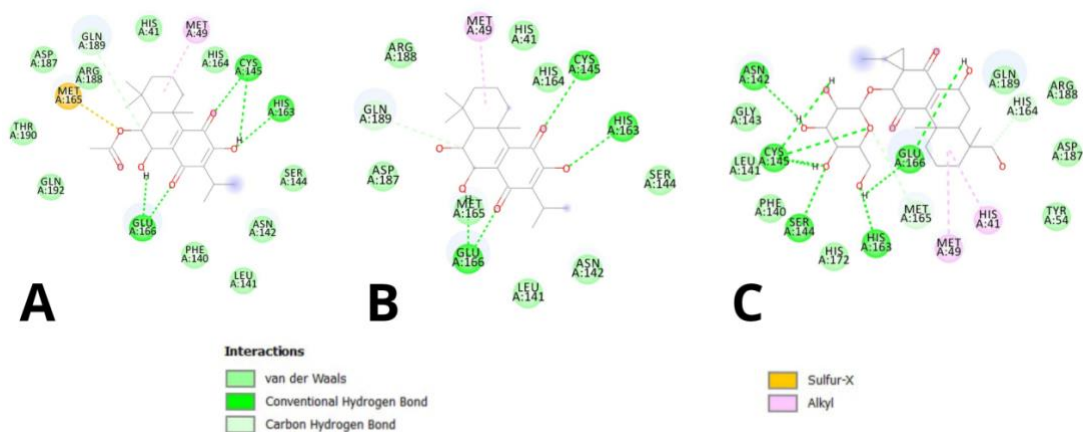
Ligan	Jenis ikatan		Distance (Å)
	Hidrogen	Hidrofobik	
Inhibitor N3 (ligan alami)	GLU166, GLY143, HIS164, PHE140, HIS163, GLU166, THR190, GLN189	HIS172, MET165, MET49, ALA191, PRO168, LEU167, HIS41, MET165	(2,97927; 2,86529; 2,80304; 3,18679; 2,36734; 2,83433; 2,84976; 2,88951) (3,7244; 3,692; 4,73045; 4,53889; 4,84869; 5,46094; 4,26542; 4,57008)
6-asetil7-hidroksiroileanon	CYS145, HIS163, GLU166, GLU166, CYS145, GLN189	MET49	(3,17; 2,60; 2,04; 2,22; 2,81; 3,62) (4,81)
7-hidroksiroileanon	CYS145, HIS163, GLU166, GLU166, GLN189	MET49	(3,11; 2,40; 2,00; 2,32; 3,45) (4,73)
diterpenoid glukosida (CH-6)	SER144, CYS145, CYS145, HIS163, CYS145, ASN142, CYS145, GLU166, MET165, HIS164	MET49, HIS41	(2,84; 2,57; 3,44; 2,30; 2,76; 2,31; 2,47; 2,68; 2,13; 3,57; 3,44) (4,34; 4,77)

Tabel 6. Interaksi ligan-reseptor 2GTB

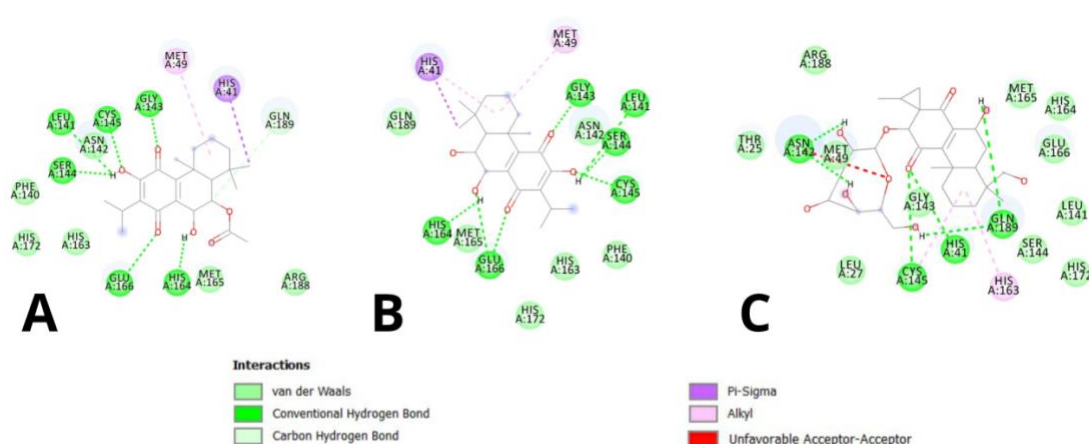
Ligan	Jenis ikatan		Distance (Å)
	Hidrogen	Hidrofobik	
Inhibitor AZP (ligan alami)	GLY143, SER144, CYS145, GLU166, GLU166, GLN189, HIS164, PHE140, GLU166, ASN142, THR190	HIS163, GLN192, HIS41, LEU167, PRO168, CYS44	(2,79412; 3,17381; 3,18462; 2,83378; 3,14382; 3,08682; 2,65257; 3,38481; 2,90501; 3,20585; 3,79841) (3,43955; 3,36665; 4,25717; 4,6553; 4,38807; 5,3719)
6-Asetil,7-hidroksiroileanon	GLY143, CYS145, GLU166, HIS164, LEU141, SER144, GLN189	HIS41, MET49	(1,78; 2,08; 2,50; 1,74; 2,63; 1,97; 3,69) (3,77; 5,24)
7-Hidroksiroileanon	GLY143, CYS145, GLU166, GLU166, LEU141, SER144, HIS164	HIS41, MET49, HIS41	(1,83; 1,86; 2,44; 2,94; 2,91; 2,01; 1,97) (3,83; 5,18; 5,35)
Diterpenoid glukosida (CH-6)	HIS41, CYS145, GLN189, ASN142, ASN142, GLN189,	CYS145, HIS163	(2,15; 2,86; 2,25; 1,98; 1,92; 2,40) (4,20, 5,40)

Lipinski's rule of five yang juga dikenal sebagai *Pfizer's Rule of five* atau *Rule of five* (RO5) merupakan aturan praktis untuk mengevaluasi obat atau menentukan apakah suatu senyawa

kimia memiliki aktivitas farmakologi atau biologi berdasarkan sifatnya, sehingga diprediksi obat tersebut aktif jika diberikan secara oral pada manusia.



Gambar 7. Interaksi ligan-reseptor 6LU7 dalam visualisasi 2D. Senyawa 6-asetil7-hidroksiroileanon (A), Senyawa 7-hidroksiroileanon (B) dan Senyawa diterpenoid glukosida (CH-6) (C).



Gambar 8. Interaksi ligan-reseptor 2GTB dalam visualisasi 2D. Senyawa 6-asetil7-hidroksiroileanon (A), Senyawa 7-hidroksiroileanon (B) dan Senyawa diterpenoid glukosida (CH-6) (B).

Aturan ini menjelaskan sifat molekul penting bagi farmakokinetik obat dalam tubuh manusia, termasuk penyerapan mereka, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (17).

Molekul senyawa yang diinginkan dalam merancang obat yang aktif secara oral harus memenuhi '*Lipinski's Rule of Five*' yaitu berat molekul kurang dari 500, memiliki tidak lebih dari 5 gugus hidrogen donor, memiliki tidak lebih dari 10 gugus hidrogen akseptor, dan nilai logP tidak lebih dari 5 (18). Massa molekul pada penelitian ini ditentukan menggunakan perangkat lunak ChemDraw Ultra 12.0. Hasil analisis *Lipinski's Rule of Five* dapat dilihat pada **Tabel 7**.

Massa molekul dari senyawa 6-asetil7-hidroksiroileanon dan 7-hidroksiroileanon

memenuhi syarat pada aturan, sedangkan diterpenoid glukosida (CH-6) kurang memenuhi syarat karena memiliki massa $>500\text{g/mol}$.

Berdasarkan nilai koefisien partisi atau Log P ketiga senyawa ini memenuhi syarat karena memiliki nilai <5 . Berdasarkan hidrogen donor dan hidrogen akseptornya, ketiga senyawa memenuhi syarat baik saat diinteraksikan dengan reseptor 6LU7 maupun reseptor 2GTB.

Hasil ini analisa pada ketiga senyawa ini menunjukkan bahwa senyawa 6-asetil7-hidroksiroileanon dan 7-hidroksiroileanon diprediksi mampu digunakan sebagai obat oral. Sedangkan senyawa diterpenoid glukosida (CH-6) diprediksi kurang baik digunakan sebagai obat oral dibandingkan 2 senyawa lainnya karena memiliki massa molar yang $>500\text{g/mol}$.

Tabel 7. Hasil analisa *Lipinski's rule of five*

Ligan	Massa molekul (g/mol)	Log P (Koefisien partisi)	H-Donor (6LU7 / 2GTB)	H-akseptor 6LU7 / 2GTB)
6-asetil7-hidroksiroileanon	390,48	3,23	2 / 2	3 / 3
7-hidroksiroileanon	348,44	2,52	2 / 3	3 / 2
diterpenoid glukosida (CH-6)	510,57	-1,02	5 / 4	4 / 1

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa 6-asetil7-hidroksiroileanon merupakan senyawa yang paling baik dalam membentuk kompleks dengan reseptor 6LU7 maupun 2GTB. Sedangkan senyawa 7-hidroksiroileanon dan diterpenoid glukosida (CH-6) juga memiliki kemampuan yang cukup baik jika dibandingkan dengan ligan asli reseptor, inhibitor N3 dan inhibitor AZP. Analisa *Lipinski's rule of five* dari 3 senyawa turunan diterpen abieten menunjukkan bahwa senyawa 6-asetil7-hidroksiroileanon dan 7-hidroksiroileanon diprediksi mampu digunakan sebagai obat oral. Sedangkan senyawa diterpenoid glukosida (CH-6) diprediksi kurang baik digunakan sebagai obat oral dibandingkan 2 senyawa lainnya karena memiliki massa molar >500g/mol.

Referensi

- Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382(8):727-33.
- World Health Organization (WHO). Coronavirus disease COVID-2019. WHO [Internet]. 2020; Available from: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200608-covid-19-sitrep-140.pdf?sfvrsn=2f310900_2
- McInnes C. Virtual screening strategies in drug discovery. *Curr Opin Chem Biol*. 2007;11(5):494-502.
- Zumla A, Chan JFW, Azhar EI, Hui DSC, Yuen KY. Coronaviruses-drug discovery and therapeutic options. *Nat Rev Drug Discov*. 2016;15(5):327-47.
- Hatada R, Okuwaki K, Mochizuki Y, Handa Y, Fukuzawa K, Komeiji Y, et al. Fragment molecular orbital based interaction analyses on COVID-19 main protease - inhibitor N3 complex (PDB ID:6LU7). *J Chem Inf Model* [Internet]. 2020;3-25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32539372>
- Jin Z, Du X, Xu Y, Deng Y, Liu M, Zhao Y, et al. Structure of Mpro from COVID-19 virus and discovery of its inhibitors. *Nature* [Internet]. 2020;(February). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2223-y>
- Nothias-Scaglia LF, Pannecouque C, Renucci F, Delang L, Neyts J, Roussi F, et al. Antiviral activity of diterpene esters on chikungunya virus and HIV replication. *J Nat Prod*. 2015;78(6):1277-83.
- Wen CC, Kuo YH, Jan JT, Liang PH, Wang SY, Liu HG, et al. Specific plant terpenoids and lignoids possess potent antiviral activities against severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Med Chem*. 2007;50(17):4087-95.
- Hsu CH, Hwang KC, Chao CL, Chang SGN, Ho MS, Lin JG, et al. An evaluation of the additive effect of natural herbal medicine on SARS or SARS-like infectious diseases in 2003: A randomized, double-blind, and controlled pilot study. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2008;5(3):355-62.

10. McCutcheon AR, Stokes RW, Thorson LM, Ellis SM, Hancock REW, Towers GHN. Anti-mycobacterial screening of British Columbian medicinal plants. *Pharm Biol.* 1997;35(2):77-83.
11. Hazimah, Teruna HY, Jose C. Aktivitas Antioksidan dan Antimikrobia dari Ekstrak *Plectranthus amboinicus*. *J Penelit Farm Indones.* 2013;1(2):39-42.
12. Syari DI, Aini R-, Sy RH, Teruna HY. Uji aktivitas toksisitas dari ekstrak tanaman miana merah (*Coleus hybridus*) menggunakan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Phot J Sain dan Kesehat.* 2018;9(1):164-9.
13. Groneberg DA, Hilgenfeld R, Zabel P. Molecular mechanisms of severe acute respiratory syndrome (SARS). *Respir Res.* 2005;6:1-16.
14. Lee TW, Cherney MM, Huitema C, Liu J, James KE, Powers JC, et al. Crystal structures of the main peptidase from the SARS coronavirus inhibited by a substrate-like aza-peptide epoxide. *J Mol Biol.* 2005;353(5):1137-51.
15. Liu X, Wang XJ. Potential inhibitors against 2019-nCoV coronavirus M protease from clinically approved medicines. *J Genet Genomics.* 2020;47(2):119-21.
16. Moustakas DT, Lang PT, Pegg S, Pettersen E, Kuntz ID, Brooijmans N, et al. Development and validation of a modular, extensible docking program: DOCK 5. *J Comput Aided Mol Des.* 2006;20(10-11):601-19.
17. Lipinski CA. Lead profiling Lead- and drug-like compounds : the rule-of-five revolution. Elseviers. 2004;1(4):337-41.
18. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 1997;23:3-25.

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi dari Akar dan Batang Tumbuhan Sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour)

Rahayu Utami^{1*}, Dwi Winarsih¹, Armon Fernando¹, Mustika Furi¹,
Haiyul Fadhli¹ dan Emma Susanti¹

Artikel Penelitian

Abstract: Sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour) is plant species that has been using widely as traditional medicine such as a cure for diarrhea. This study was conducted to determine the antibacterial activity of extract and fractions of its root and stem against bacteria that cause diarrhea. The sample of root and stem were macerated with ethanol and then followed by ultrasonication process for 30 minutes. Fractionation process was performed by acid-base method using three different solvents which were n-hexane, chloroform and n-butanol. The extract and fractions were tested for its antibacterial activity using agar diffusion method at tested concentrations of 30; 15; 7.5; 3.75 and 1.88%. The result showed that the ethanol extract, n-hexane, chloroform A and chloroform B fractions of the root and stem provided antibacterial activity against all tested bacteria with weak to medium activity. Whereas the n-butanol fraction did not give any activity, either to *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* as well as *Vibrio cholerae*.

Keywords: antibacterial, diarrhea, *Fibraurea tinctoria*, acid base extraction, sekunyit, ultrasonication.

Abstrak: Sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour) merupakan tumbuhan yang berbentuk liana yang akar dan batangnya digunakan secara tradisional sebagai obat, salah satunya digunakan sebagai obat diare. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksinya terhadap bakteri penyebab diare meliputi *Escherichia coli*, *Salmonella typhii*, *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholerae*. Sampel akar dan batang dimaserasi dengan etanol dan selanjutnya diultrasonikasi selama 30 menit. Fraksinasi dilakukan menggunakan metode asam basa dengan pelarut n-heksana, kloroform dan n-butanol. Ekstrak dan fraksi kemudian diuji aktivitas antibakterinya menggunakan metode difusi agar pada konsentrasi 30; 15; 7,5; 3,75 dan 1,88%. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi kloroform A dan fraksi kloroform B dari akar dan batang sekunyit memberikan aktivitas antibakteri terhadap semua bakteri uji dengan kategori lemah sampai sedang, sedangkan fraksi n-butanol tidak memberikan hambatan, baik terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhii*, *Staphylococcus aureus* maupun *Vibrio cholerae*.

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi
Riau, Pekanbaru 28289,
Riau, Indonesia

Korespondensi:

Rahayu Utami
rahayuutami@stifar-riau.ac.id

Kata kunci: antibakteri, diare, *Fibraurea tinctoria*, metoda asam basa, sekunyit, ultrasonikasi.

Pendahuluan

Famili Menispermaceae merupakan sekelompok tumbuhan yang telah lama dimanfaatkan sebagai obat tradisional dan dianggap sebagai sumber penghasil alkaloid isokuinolin. Alkaloid isokuinolin dilaporkan dapat memberikan beragam aktivitas farmakologi (1), termasuk sebagai antibakteri (2). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa spesies dari Menispermaceae memiliki aktivitas sebagai antibakteri, diantaranya seperti *Arcangelisia flava*, *Coscinium fenestratum* dan *Tinospora cordifolia*. Ekstrak air *Arcangelisia flava* pada konsentrasi 2% mampu memberikan zona hambat sebesar 19,35 dan 16,98 mm berturut-turut terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* (3).

Spesies yang lain adalah *Coscinium fenestratum*, ekstrak etanol dari batang tumbuhan ini pada konsentrasi 10% menunjukkan zona hambat sebesar 15 mm terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dengan nilai KHM dan KBM 0,0049%, sedangkan terhadap *Staphylococcus epidermidis* memberikan zona hambat 16 mm dengan nilai KHM 0,0049% dan KBM 0,0165% (4). Selain itu, ekstrak metanol dari batang tumbuhan *Tinospora cordifolia* pada konsentrasi 10% juga memberikan aktivitas antibakteri dengan zona hambat sebesar 17 mm untuk *Escherichia coli*, 12 mm untuk *Pseudomonas aeruginosa* dan 13 mm untuk *Bacillus subtilis* (5).

Tumbuhan *Fibraurea tinctoria* Lour yang memiliki nama daerah sekunyit juga tergolong ke dalam Menispermaceae. Secara tradisional, bagian akar sekunyit dimanfaatkan untuk mengobati sakit perut dan diare berdarah (6). Akar dan batang tumbuhan untuk obat sakit perut, disentri, diabetes, sakit kepala dan sakit mata. Selain itu, juga digunakan untuk mengobati gejala seperti malaria (7).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, diketahui bahwa tumbuhan sekunyit mengandung beberapa senyawa alkaloid yaitu palmatin, jatrorrizin dan berberin(1). Alkaloid dari batang dan akar tumbuhan sekunyit tersebut berjenis sama. Selain itu, sekunyit juga diketahui mengandung senyawa terpenoid, baik pada batang, daun maupun akarnya (8).

Berdasarkan uraian tersebut, maka peneliti tertarik untuk melakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi dari akar dan batang tumbuhan sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour). Penelitian ini diharapkan dapat membantu penemuan antibakteri yang baru, terutama terhadap beberapa bakteri penyebab diare yaitu *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholerae*.

Bahan dan Metode

Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar dan batang sekunyit yang diambil di Kecamatan Batang Peranap, Indragiri Hulu, Provinsi Riau. Bakteri uji yaitu *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Vibrio cholerae*. Bahan-bahan yang digunakan adalah *n*-heksana, etanol, kloroform, *n*-butanol, etilasetat, metanol, asam asetat glasial, asam klorida 1 N, natrium karbonat 5%, kloroform amoniak, logam magnesium, asam sulfat 2 N, asam klorida pekat, norit, besi (III) klorida 1%, pereaksi Liebermann-Burchard, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, asam sulfat 10%, Nutrient Agar (Merck®), siprofloksasin, dimetil sulfoksida (Merck®), natrium klorida fisiologis dan akuades.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat destilasi, satu unit *rotary evaporator* (Buchi®), ultrasonik (Kerry®), timbangan analitik (Shimadzu®), botol, kertas saring, *aluminium foil*, spatel, corong pisah, kertas pH, plat KLT GF254, pipet kapiler, lampu UV, pinset, pipet mikro, spektrofotometer UV-Vis (Genesys®), LAF, autoklaf, inkubator, vortek, oven, kertas cakram, jarum Ose, cawan Petri, jangka sorong, kasa steril, *hot plate* (Torrey Pines®), lampu spiritus dan peralatan gelas yang umum digunakan.

Metode

Pengambilan dan identifikasi sampel

Sampel diambil dari Kecamatan Batang Peranap, Kabupaten Indragiri Hulu. Bagian yang digunakan adalah akar dan batang tumbuhannya. Identifikasi tumbuhan dilakukan di Fakultas

Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA)
Jurusan Biologi Universitas Riau, Pekanbaru.

Persiapan Simplisia

Akar dan batang tumbuhan terlebih dahulu dibersihkan dari kotoran yang melekat, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50 °C. Setelah itu dilakukan sortasi kering, dipotong kecil-kecil dan dihaluskan menjadi serbuk.

Ekstraksi Simplisia

Sebanyak 700 g serbuk akar dan batang dimaserasi dengan etanol 2,5 L selama 24 jam dan diultrasonikasi selama 30 menit. Maserat etanol disaring dan ampasnya dimaserasi kembali dengan etanol dengan prosedur yang sama sebanyak 7 kali pengulangan. Filtrat yang telah diperoleh dikumpulkan dan dikentalkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental etanol dan ditimbang.

Fraksinasi dengan Metode Asam Basa

Ekstrak etanol sebanyak 8 g, ditambah dengan 50 ml akuades, kemudian diaduk homogen. Setelah itu ditambah 50 ml *n*-heksana. Campuran dimasukkan ke dalam corong pisah, kemudian dikocok hingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan *n*-heksana dipisahkan dari lapisan air dan dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Lapisan air ditambah dengan *n*-heksana kembali dengan prosedur yang sama hingga menjadi bening.

Lapisan air dari pemisahan *n*-heksana, diasamkan dengan asam klorida 1 N hingga pH 2 dan ditambah 50 ml kloroform. Campuran dimasukkan ke dalam corong pisah, kemudian dikocok hingga terbentuk 2 lapisan, lapisan asam dan lapisan kloroform A. Lapisan kloroform A dipisahkan dari lapisan asam dan dipekatkan. Lapisan asam ditambah dengan kloroform kembali dengan prosedur yang sama hingga menjadi bening.

Lapisan asam dari pemisahan kloroform A dibasakan dengan larutan natrium karbonat 5% hingga pH 10 dan ditambahkan 50 ml kloroform, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah. Campuran dikocok hingga terbentuk 2 lapisan, lapisan basa berair dan lapisan kloroform B. Lapisan kloroform B dipisahkan dari lapisan basa berair dan dipekatkan. Lapisan basa berair

ditambah dengan kloroform kembali dengan prosedur yang sama hingga menjadi bening.

Lapisan air dari pemisahan kloroform B ditambah dengan 50 ml *n*-butanol di dalam corong pisah. Kemudian campuran dikocok hingga terbentuk 2 lapisan, *n*-butanol dipisahkan dari lapisan air dan dipekatkan. Lapisan air diulangi dengan penambahan *n*-butanol hingga menunjukkan hasil yang negatif alkaloid pada penambahan pereaksi Mayer (9).

Uji Fitokimia Ekstrak dan Fraksi

Uji fitokimia dilakukan meliputi uji senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik, steroid dan terpenoid terhadap ekstrak dan fraksi yang telah diperoleh. Pada masing-masing ekstrak dan fraksi ditambahkan air suling dan kloroform sebanyak 5 ml (1:1) lalu dikocok kuat dan didiamkan beberapa saat hingga terbentuk 2 lapisan, yaitu lapisan air dan kloroform. Lapisan air digunakan untuk uji flavonoid, fenolik dan saponin. Sedangkan lapisan kloroform digunakan untuk uji steroid dan terpenoid. Uji alkaloid memiliki prosedur tersendiri.

Uji Flavonoid

Beberapa tetes lapisan air pada plat tetes ditambah 1-2 butir logam magnesium dan beberapa tetes asam klorida pekat. Hasil uji positif bila larutan berubah warna menjadi jingga, merah muda hingga merah.

Uji Fenolik

Beberapa tetes lapisan air pada plat tetes ditambah larutan besi (III) klorida 1%. Hasil uji positif bila larutan berubah warna menjadi biru atau ungu.

Uji Saponin

Lapisan air dalam tabung reaksi dikocok. Hasil uji positif mengandung saponin ditunjukkan dengan adanya busa yang stabil.

Uji Terpenoid dan Steroid

Lapisan kloroform disaring menggunakan pipet yang berisi norit. Filtrat sebanyak 2-3 tetes diteteskan pada plat tetes dan dibiarkan mengering. Setelah kering ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard (2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat). Hasil uji positif terpenoid apabila warna larutan berubah

menjadi merah dan positif steroid apabila warna larutan berubah menjadi hijau hingga biru.

Alkaloid

Sebanyak 0,05 g ekstrak atau fraksi dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 10 ml kloroform dan 10 ml kloroform amoniak 0,05 M diaduk dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditambah 1 mL asam sulfat 2 N dan dikocok selama 2 menit, didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Kedua lapisan dipisahkan dan lapisan asam ditambah dengan pereaksi Mayer. Hasil uji positif untuk alkaloid jika terjadi endapan putih.

Uji Aktivitas Antibakteri ekstrak dan fraksi

Ekstrak dan fraksi yang akan diuji dilarutkan dalam DMSO dengan konsentrasi 30; 15; 7,5; 3,75 dan 1,88%.

Sebanyak 0,3 mL biakan bakteri dimasukkan ke dalam cawan Petri, kemudian ditambahkan media NA $\pm$ 15 mL. Setelah media padat, kertas cakram steril yang sebelumnya telah ditetesi dengan masing-masing sampel uji sebanyak 10 μ l diletakkan pada permukaan media. Kontrol positif yang digunakan adalah cakram siprofloksasin 5 μ g dan kontrol negatif ditetesi dengan DMSO yang digunakan untuk melarutkan sampel uji. Cawan Petri diinkubasi dengan keadaan terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu, diukur zona hambat pertumbuhan bakteri menggunakan jangka sorong.

Analisis Data

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel, gambar dan diagram, kemudian dianalisa

secara statistik deskriptif. Aktivitas antibakteri dapat dilihat dengan mengukur zona hambat.

Hasil dan Diskusi

Maserasi 700 g akar dan batang sekunyit dengan 2,5 L etanol selama 24 jam dan ultrasonikasi selama 30 menit dengan pengulangan sebanyak 7 kali, diperoleh ekstrak kental berwarna coklat kehitaman sebanyak 21,5 g dengan rendemen 3,07%. Metode maserasi untuk mengekstraksi komponen senyawa dalam sampel dipilih karena dapat mengekstraksi senyawa yang tidak tahan terhadap panas, peralatan yang digunakan lebih sederhana dan proses pengerjaannya mudah. Namun, maserasi merupakan metode yang tidak efisien dari segi waktu ekstraksi. Sehingga dalam hal ini digunakan metode ultrasonikasi yang dilakukan selama 30 menit. Dimana, ekstraksi dengan ultrasonikasi selama 30 menit merupakan waktu yang optimal dalam mengekstraksi alkaloid dengan kadar yang paling tinggi dibandingkan pada waktu yang lainnya (10). Ultrasonikasi merupakan salah satu metode yang dapat meningkatkan laju perpindahan jumlah senyawa dari sel tumbuhan sehingga mempercepat waktu ekstraksi. Tanpa adanya faktor yang dapat mempercepat perpindahan massa dalam suhu ruang, maka waktu kontak antara sampel dengan pelarut harus dalam waktu yang cukup lama. Selain itu, salah satu sifat dari ultrasonikasi adalah non destruktif dan non invasif sehingga mudah diadaptasikan dalam berbagai aplikasi (11).

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Akar dan Batang Tumbuhan Sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour)

No.	Kandungan Kimia	Pereaksi	Ekstrak EtOH	Fraksi			
				<i>n</i> -heksana	CHCl ₃ A	CHCl ₃ B	BuOH
1	Alkaloid	Mayer	+	-	+	+	+
2	Flavonoid	Mg/HCl	-	-	-	-	-
3	Terpenoid	LB	+	+	+	-	-
4	Steroid	LB	-	-	-	-	-
5	Fenolik	FeCl ₃	-	-	-	-	-
6	Saponin	Air	-	-	-	-	-

Keterangan : LB = Liebermann-Burchard; + = Bereaksi; - = Tidak Bereaksi

Fraksinasi 8 g ekstrak etanol akar dan batang sekunyit dengan metode asam basa menghasilkan 4 fraksi, yaitu fraksi *n*-heksana berwarna hijau kecoklatan sebanyak 0,45 g (5,63%), fraksi kloroform A kuning kecoklatan sebanyak 3,11 g (38,88%), fraksi kloroform B berwarna merah kecoklatan sebanyak 0,44 g (5,5%) dan fraksi *n*-butanol berwarna merah kecoklatan sebanyak 1,5 g (18,75%). Pelarut *n*-heksana digunakan dalam proses fraksinasi akan melarutkan senyawa-senyawa non polar seperti lemak/lilin, terpenoid dan steroid, sehingga memudahkan proses fraksinasi dengan pelarut selanjutnya. Adanya penambahan asam dalam fraksinasi bertujuan untuk mendapatkan alkaloid berbentuk garam sehingga lebih mudah larut dalam pelarut organik, dalam hal ini adalah kloroform. Kloroform tersebut dapat melarutkan senyawa alkaloid golongan primer, sekunder dan tersier (fraksi kloroform A). Fraksinasi lapisan air dengan penambahan basa bertujuan untuk mendapatkan alkaloid kuarternier bebas yang nantinya terlarut di dalam kloroform yang digunakan (fraksi kloroform B). *n*-Butanol merupakan pelarut polar yang digunakan dalam fraksinasi yang akan melarutkan senyawa-senyawa polar. Berdasarkan persen rendemen yang diperoleh diketahui bahwa fraksi kloroform A memberikan rendemen terbesar dengan kandungan senyawa golongan terpenoid dan alkaloid dari hasil uji skrining fitokimia yang dilakukan. Senyawa golongan terpenoid dan alkaloid juga terdeteksi dalam ekstrak etanolnya. Fraksi kloroform B dan *n*-butanol hanya mengandung alkaloid (**Tabel 1**).

Uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan cakram dan media Nutrient Agar. Ekstrak dan fraksi tersebut diujikan ke bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholerae*. Ke empat bakteri tersebut dipilih karena merupakan beberapa bakteri penyebab diare (12), dimana diketahui secara tradisional akar dan batang tumbuhan ini juga digunakan untuk mengobati sakit perut, diare dan disentri (6).

Ekstrak dan fraksi yang diuji dibuat dalam konsentrasi 30; 15; 7,5; 3,75 dan 1,88%. Pemilihan konsentrasi tersebut didasarkan pada pertimbangan penggunaan konsentrasi 2% pada

ekstrak air tumbuhan *Archangelisia flava* yang termasuk salah satu famili Menispermaceae. Ekstrak air tersebut menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* (3), sehingga dipilih konsentrasi terkecil yang mendekati 2%. Kemudian konsentrasi selanjutnya digunakan kelipatannya dengan tujuan untuk mempermudah pembuatan seri konsentrasi.

Sebagai pembanding digunakan kontrol negatif dan kontrol positif. Kontrol negatif adalah cakram yang hanya mengandung pelarut. DMSO yang digunakan untuk melarutkan sampel uji. Penggunaan kontrol negatif bertujuan untuk memastikan bahwa zona hambat yang dihasilkan bukan berasal dari pelarut yang digunakan, tetapi benar-benar berasal dari ekstrak dan fraksi uji. DMSO dipilih karena memiliki sifat dapat melarutkan senyawa polar dan non polar (13), sehingga diharapkan dapat melarutkan semua komponen senyawa yang terkandung di dalam ekstrak dan fraksi uji, sedangkan kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin 5 µg/disk. Penggunaan kontrol positif bertujuan untuk membuktikan bahwa pengujian yang dilakukan sudah tepat dan menghasilkan perubahan yang ditandai dengan terbentuknya zona bening. Siprofloksasin digunakan karena merupakan antibiotik yang berspektrum luas, meliputi bakteri Gram positif dan Gram negatif. Selain itu, siprofloksasin masih digunakan sebagai antibiotik pilihan utama dan alternatif terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholerae* (14).

Dari pengujian menunjukkan bahwa DMSO sebagai pelarut yang melarutkan ekstrak dan fraksi tidak menunjukkan zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Sehingga zona hambat yang dihasilkan pada setiap konsentrasi benar-benar berasal dari sampel uji. Sedangkan zona hambat yang dihasilkan oleh siprofloksasin sebagai kontrol positif rata-rata memberikan zona hambat kategori kuat baik terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* maupun *Vibrio cholerae*.

Uji aktivitas antibakteri yang telah dilakukan pada ekstrak dan fraksi dari akar dan batang tumbuhan sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour) dengan beberapa konsentrasi memberikan aktivitas antibakteri yang berbeda-beda terhadap

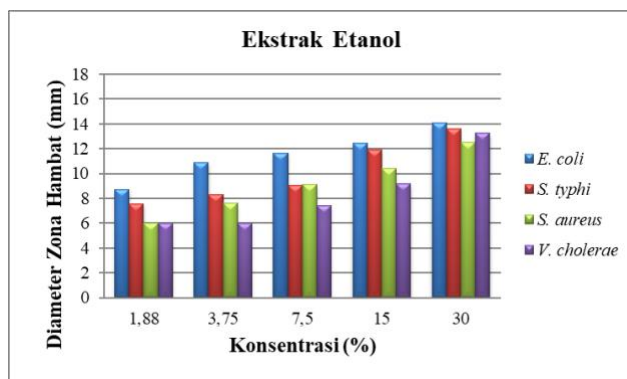
bakteri uji yang digunakan. Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona hambat di sekitar cakram. Zona hambat yang terbentuk pada uji difusi agar berukuran kurang atau sama dengan 14 mm, maka aktivitas penghambatannya dikategorikan lemah, apabila zona hambat berukuran 15-19 mm dikategorikan sedang dan sama dengan 20 mm atau lebih dikategorikan kuat (15).

Hasil pengukuran zona hambat menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antibakteri yang lemah terhadap Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol memberikan aktivitas kategori lemah pada konsentrasi 30; 15; 7,5; 3,75 dan 1,88% terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*, konsentrasi 30; 15; 7,5 dan 3,75% terhadap *Staphylococcus aureus* dan konsentrasi 30; 15 dan 7,5% terhadap *Vibrio cholerae*. Ekstrak etanol dengan konsentrasi uji paling rendah 1,88% tidak

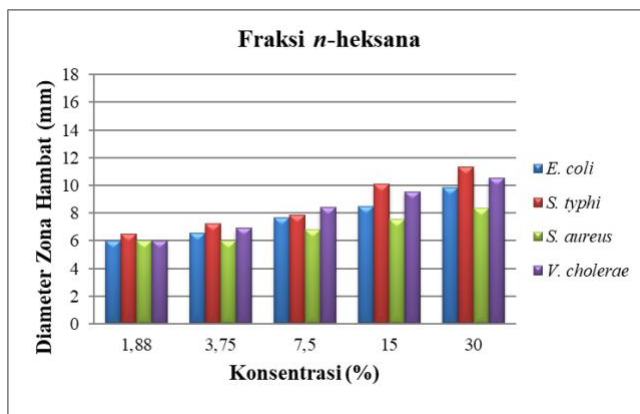
menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*; konsentrasi 3,75 dan 1,88% terhadap *Vibrio cholerae* (**Gambar 1**).

Fraksi *n*-heksana menunjukkan aktivitas antibakteri kategori lemah pada semua konsentrasi uji terhadap *Salmonella typhi*, konsentrasi 30; 15; 7,5 dan 3,75% terhadap *Escherichia coli* dan *Vibrio cholerae*, konsentrasi 30; 15 dan 7,5% terhadap *Staphylococcus aureus* (**Gambar 2**).

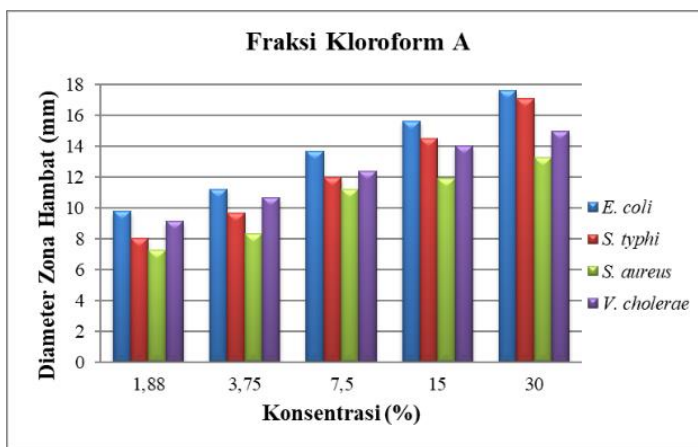
Fraksi kloroform A menunjukkan aktivitas antibakteri kategori sedang pada konsentrasi 30 dan 15% terhadap *Escherichia coli*; konsentrasi 30% terhadap *Salmonella typhi*, sedangkan kategori lemah pada konsentrasi 7,5; 3,75 dan 1,88% terhadap *Escherichia coli*, konsentrasi 15; 7,5; 3,75 dan 1,88% terhadap *Salmonella typhi*, konsentrasi 30; 15; 7,5; 3,75 dan 1,88% terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholerae* (**Gambar 3**).



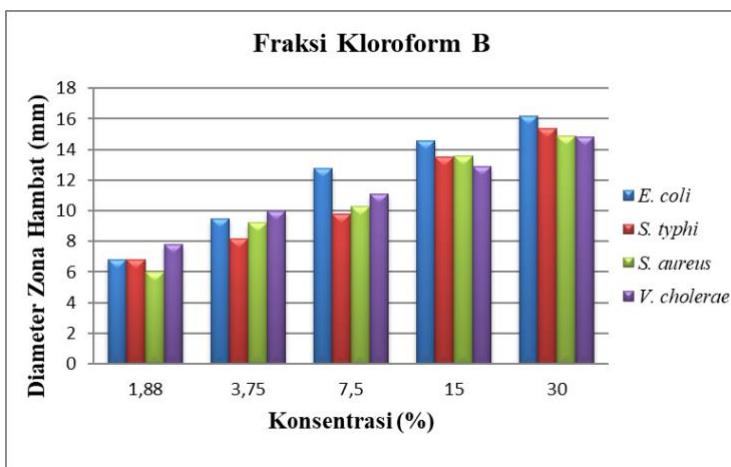
Gambar 1. Diagram Hubungan antara Konsentrasi Uji Ekstrak Etanol terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri Uji



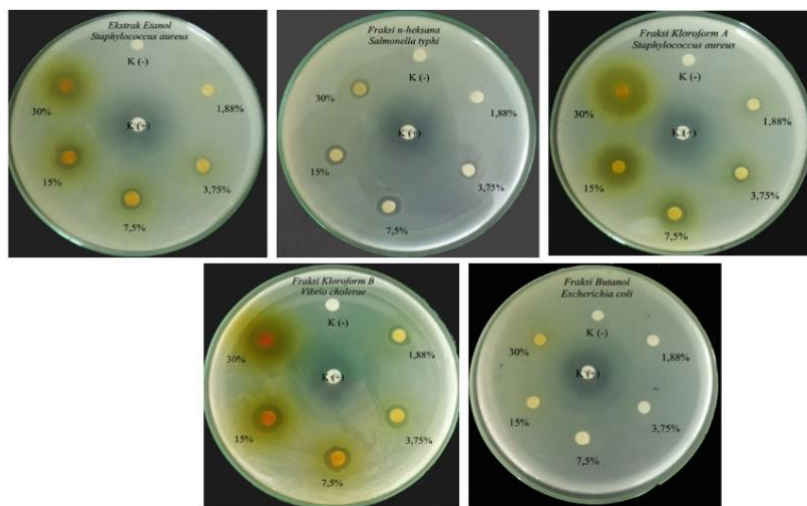
Gambar 2. Diagram Hubungan antara Konsentrasi Uji Fraksi *n*-Heksana terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri Uji



Gambar 3. Diagram Hubungan antara Konsentrasi Uji Fraksi Kloroform A terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri Uji



Gambar 4. Diagram Hubungan antara Konsentrasi Uji Fraksi *n*-Butanol terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri Uji



Gambar 5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi terhadap Bakteri Uji

Fraksi kloroform B menunjukkan aktivitas antibakteri kategori sedang pada konsentrasi 30%, kategori lemah pada konsentrasi 15; 7,5; 3,75 dan 1,88% terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. Kategori lemah pada konsentrasi 30; 15; 7,5; 3,75 dan 1,88% terhadap *Vibrio cholerae*, konsentrasi 30; 15; 7,5 dan 3,75 terhadap *Staphylococcus aureus*. Sedangkan konsentrasi 1,88% terhadap *Staphylococcus aureus* tidak menunjukkan aktivitas antibakteri (**Gambar 4**). Uji aktivitas antibakteri fraksi *n*-butanol pada konsentrasi 30; 15; 7,5; 3,75 dan 1,88% tidak menunjukkan aktivitas antibakteri baik terhadap semua bakteri uji (**Gambar 5**).

Daya hambat yang dihasilkan dari ekstrak dan fraksi terhadap ke empat bakteri semakin besar dengan meningkatnya konsentrasi, dikarenakan konsentrasi dapat mempengaruhi kecepatan difusi senyawa aktif. Makin besar konsentrasi ekstrak dan fraksi uji, maka makin besar pula kecepatan difusi zat aktif. Akibatnya, makin besar aktivitas antibakteri dan makin luas diameter zona hambat yang terbentuk.

Fraksi kloroform A menunjukkan aktivitas antibakteri yang paling besar dibandingkan ekstrak etanol, fraksi kloroform B dan fraksi *n*-heksana. Adanya kandungan alkaloid dan terpenoid, diharapkan aktivitas antibakteri yang dihasilkan akan lebih besar. Namun, dari hasil pengujian antara fraksi kloroform A dan ekstrak etanol memberikan hasil yang berbeda. Hal ini diduga karena kandungan senyawa pada ekstrak etanol yang masih kompleks, yaitu adanya pengaruh dari senyawa-senyawa lain yang tidak bersifat sebagai antibakteri sehingga terjadi penurunan aktivitas antibakteri. Lain halnya dengan fraksi kloroform A, adanya proses fraksinasi menyebabkan kandungan senyawa pada fraksi kloroform A lebih sederhana, sehingga memberikan aktivitas antibakteri yang lebih besar. Campuran senyawa aktif pada tumbuhan dapat memberikan efek yang berbeda-beda, baik itu efek sinergis, antagonis ataupun netral.

Alkaloid diketahui memiliki mekanisme antibakteri dengan cara merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada sel tersebut (16). Namun untuk dapat merusak

penyusun peptidoglikan tersebut, senyawa alkaloid harus mampu menembus membran luar bakteri. Mekanisme tersebut dapat dilakukan oleh senyawa terpenoid. Karena diketahui bahwa terpenoid bersifat non polar/larut lemak yang memiliki aktivitas antibakteri dengan cara merusak membran sel. Terpenoid akan bereaksi dengan sisi aktif membran, melarutkan komponen lipid dan meningkatkan permeabilitasnya (17). Setelah membran luar bakteri rusak oleh terpenoid, maka senyawa alkaloid akan lebih mudah masuk ke dalam sel dan merusak komponen peptidoglikan. Hal tersebut menyebabkan fraksi kloroform A memiliki aktivitas antibakteri yang paling besar diantara ekstrak dan fraksi yang lainnya.

Selain itu, alkaloid juga memiliki kemampuan dalam menginterkalasi DNA bakteri, yaitu dengan cara mengikat basa nitrogen diantara susunan asam amino sehingga menyebabkan bakteri menjadi lisis dan juga dapat menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (18). Adanya mekanisme tersebut, diduga senyawa alkaloid pada fraksi kloroform B mampu memberikan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri.

Pada pengujian, fraksi *n*-heksana lebih efektif terhadap bakteri Gram negatif, terutama *Salmonella typhi* dibandingkan terhadap *Staphylococcus aureus* yang merupakan Gram positif. Hal ini diduga karena kandungan porin pada membran luar dinding sel bakteri Gram negatif yang berfungsi sebagai keluar masuknya senyawa aktif. Senyawa terpenoid diketahui dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan terjadinya kerusakan pada porin. Rusaknya porin tersebut akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (19).

Fraksi *n*-butanol tidak menunjukkan aktivitas antibakteri, hal tersebut diduga karena jumlah kandungan senyawa alkaloid yang banyak terdapat di dalamnya yang menyebabkan terjadinya ikatan antarmolekul, sehingga terbentuk molekul yang lebih besar. Molekul yang lebih besar tersebut tidak mampu menembus pori-pori media agar dan menyebabkan tidak

terjadinya kontak langsung antara senyawa aktif dengan bakteri, sehingga tidak terjadi kerusakan pada sel bakteri. Selain itu, diperkirakan alkaloid pada fraksi *n*-butanol bersifat sangat polar. Diduga karena tingginya kepolaran senyawa alkaloid pada fraksi *n*-butanol menyebabkan senyawa tersebut tidak mampu untuk menembus dinding sel bakteri Gram negatif yang terdiri dari peptidoglikan 10%, lipopolisakarida dan kandungan lipid tinggi 11-22%. Kandungan lipid yang tinggi menyebabkan senyawa yang sangat polar tidak mampu menembus dinding sel bakteri. Selain itu, bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri Gram positif diketahui dapat mengeluarkan suatu senyawa yaitu beta laktamase yang sifatnya merusak aktivitas antibakteri (14), sehingga diduga alkaloid yang terkandung di dalam fraksi *n*-butanol mengalami penurunan aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Kesimpulan

Ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi kloroform A dan fraksi kloroform B dari akar dan batang tumbuhan sekunyit (*Fibraurea tinctoria* Lour) memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab diare dengan kategori lemah sampai sedang. Namun, fraksi *n*-butanol tidak memberikan hambatan terhadap semua bakteri uji, baik bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* maupun *Vibrio cholerae*.

Referensi

1. Keawpradub N, Dej-adisai S, and Yuenyongsawad. Antioxidant and Cytotoxic Activities of Thai Medicinal Plants Named Khaminkhruea: *Arcangelisia flava*, *Coscinium blumeianum* and *Fibraurea tinctoria*. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 2005; 27, 455-467.
2. Cushine TPT, Cushine B, and Lamb AJ. Alkaloids : An Overview of Their Antibacterial, Antibiotic-enhancing and Antivirulence Activities, *International Journal of Antimicrobial Agents.* 2014; 44, 377-386.
3. Heryani H, and Nugroho A. Study of Yellow Root (*Arcangelisia flava* Miers) as A Natural Food Additive with Antimicrobial and Acidity-stabilizing Effects in the Production Process of Palm Sugar, *Procedia Enviromental Sciences.* 2015;23, 346-350.
4. Kumar GS, Jayaveera KN, Kumar, CKA, Sanjay UP, Swamy BMV, and Kumar DVK. Antimicrobial Effects of Indian Medicinal Plants againts Acne-inducing Bacteria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* 2007;6(2),717-723.
5. Goveas SW, and Abraham A. Evaluation of Antimicrobial and Antioxidant Activity of Steam and Leaf Extracts of *Coscinium fenestratum*. *Asian J Pharm Clin Res.* 2013; 6, 218-221.
6. Mohamad S. 2010. The Ethnobotany of The Semelai Community at Tasek Bera, Pahang, Malaysia : An Ethnographic Approach for Re-Settlement, *Tesis*, School of Architecture, Landscape Architecture and Urban Design, The University of Adelaide, Australia.
7. Nguyen-Pouplin J, Tran H, Phan TA, Dolecek C, Farrar J, Tran TH, Caron P, Bodo B, and Grellier P. Antimalarial and Cytotoxic Activities of Ethnopharmacologically Selected Medicinal Plants from South Vietnam, *Journal of Ethnopharmacology.* 2007;109, 417-427.
8. Wahyuningsih MSH, Wahyuono S, Santosa D, Setiadi J, Soekotjo, Widiastuti SM, Rakhmawati R, dan Wahyuni DSC. Eksplorasi Tumbuhan dari Hutan Kalimantan Tengah sebagai Sumber Senyawa Bioaktif. *Biodiversitas.* 9(3)(2008), 169-172.
9. Sarker SD, Latif Z, and Gray AI. 2006. Natural Products Isolation. Totowa, New Jersey : Humana Press.
10. Zhang F, Chen B, Xiao S, and Yao S. Optimization and Comparison of Different Etraction Techniques for Sanguinarine and Chelerythrine in Fruits of *Macleaya cordata* (Wild), R. Br. *Separation and Purification Technology.* 2005; 42, 283-290.
11. McClements DJ. Advances in The Application of Ultrasound in Food Analysis and Processing. *Trends Food Sci. Techn.* 1995;6, 293-329.
12. McPhee SJ, dan Ganong WF. 2010. Patofisiologi Penyakit : Pengantar Menuju

- Kedokteran Klinis, terjemahan Brahm U. Pendit, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
13. Anonim. Dimethyl Sulfoxide (DMSO) Health and Safety Information, Gaylord Chemical Company. *L. L. C. Bulletin*. 2007;106, 1-16.
 14. Jawetz E, Joseph M, dan Edward A. 2012. Mikrobiologi Kedokteran, Edisi 25, terjemahan Aryandhito Widhi Nugroho, Dian Ramadhani, Hunardja Santasa, Nella Ye'sdelita dan Windriya Kerta Nirmala, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
 15. Anonymous. 2012. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard-Eleventh Edition, CLSI, USA.
 16. Juliantina FR, Citra DA, Nirwani B, Nurmasitoh T, dan Bowo ET. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Antibakterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif, *JKKI-Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 2009;1(1).
 17. Nazzaro F, Fratianni F, Martino LD, Coppola R, and Feo VD. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria, *Pharmaceuticals*. 2013; 6, 1451-1474.
 18. Karou D, Savadogo A, Canini A, Yameogo S, Montesano C, Simpore J, Colizzi V, and Traore AS. Antibacterial Activity of Alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology*. 2005;4, 1452-1457.
 19. Sunatmo TI. 2009. Mikrobiologi Esensial. Mikrobiologi IPB. Bogor.