

- Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Metanol dan Fraksi buah Talok (*Muntingia calabura* L.) pada Sel RAW 264.7** 82-95
Tanti Azizah Sujono, Ika Trisharyanti Dian Kusumowati, Rima Munawaroh
- Faktor yang Mempengaruhi Praktik Pelaporan Adverse Drug Reactions (ADRs) oleh Apoteker di Beberapa Rumah Sakit di Surabaya** 96-110
Tamzil Azizi Musdar, Muhammad Thariq Nadhafi, Lestiono Lestiono, Lichijati Lichijati, Umi Athiyah, Yunita Nita
- Isolasi Sinensetin dari Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus* Blume miq.) Varietas Putih** 111-127
Fahrak Faramayuda, Soraya Riyanti, Adella Shindy Pratiwi, Totik Sri Mariani, Elfahmi Elfahmi, Sukrasno Sukrasno
- Penelusuran dan Isolasi Fungi Tanah Muara Pelabuhan Besuki Serta Skrining Aktivitas Antibakteri Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853** 128-143
Mariatul Kibthiyah, Bawon Triatmoko, Ari Satia Nugraha
- Faktor Risiko Musculoskeletal Pain pada Pasien Chronic Myeloid Leukemia (CML) dengan Kemoterapi Nilotinib di RSUD Dr. Moewardi** 144-157
Rasmaya Niruri, Eti Poncorini Pamungkasari, Syifa Maulida Rahmah
- Review: Profil Fitokimia dan Multipotensi dari *Coleus amboinicus* (Lour.)** 158-188
Rahmawati Rahmawati, Puji Astuti, Subagus Wahyuono
- Isolasi Jamur Tanah dari Muara Sungai di Desa Kilensari Kecamatan Panarukan Serta Skrining Aktivitas Antibakteri Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*** 189-202
Amrina Rosyada Fajriyanti, Bawon Triatmoko, Ari Satia Nugraha
- Pengaruh Media Kartu Tilik Terhadap Pengetahuan dan Perilaku Pengelolaan Dagusibu Obat di Wilayah Jakarta Pusat Berdasarkan Home Pharmacy Care** 203-215
Adin Hakim Kurniawan, Yusmaniar Yusmaniar, Purnama Fajri
- Potensi Biji Duwet (*Syzygium cumini* (L.) (Skeels.)) Sebagai Imunomodulator Pendamping Kemoterapi: Sebuah Ulasan** 216-227
Ahmad Syauqy Tafrihani, Christina Mutiara Putri Gono, Nyssa Natasia, Muthi Ikawati
- Evaluasi Terapi Antihipertensi Pada Pasien Preeklampsia Berat di Instalasi Rawat Inap RSUD Dr. Moewardi Periode Januari - Juni Tahun 2017** 228-237
Wisnu Kundarto, Riskafiya Ni'matul Faizah

Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research

DEWAN EDITOR

Ketua Dewan Editor

Dr. Apt. Dinar Sari C. Wahyuni, M.Si., Program Studi Farmasi, Universitas Sebelas Maret, Indonesia

Main Handling Editor

Dr. rer. Nat.Apt.Saptono Hadi, M.Si., Program Studi Farmasi, Universitas Sebelas Maret, Indonesia

Apt. Yeni Farida, M.Sc., Program Studi Farmasi, Universitas Sebelas Maret, Indonesia

Apt. Syaiful Choiri, M.Pharm.Sci.,Program Studi Farmasi, Universitas Sebelas Maret, Indonesia

Dewan Editor

- Dr. Apt. Iyan Sopyan, M.Si., Prodi Farmasi, Universitas Padjadjaran, Indonesia
- Dr. Apt. Tri Murti Andayani, Sp.FRS., Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta, Indonesia
- Dr. Apt. Teuku Nanda Saifullah Sulaiman, S.Si., M.Si.,Department of Pharmaceutics, Universitas Gadjah Mada
- Prof. Dr. Apt. Dyah Aryani Perwitasari, M.Si.,Ph.D., Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan
- Prof. Apt. Dr. Gemini Alam, M.Si., Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Indonesia
- Apt. Peni Indrayudha, PhD., IAI Cabang Surakarta, Indonesia
- Dr. Apt. Ahmad Ainurofiq, M.Si.,Program Studi Farmasi, Universitas Sebelas Maret, Indonesia
- Dr. Apt. Yosef Wijoyo, M.Si., Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma
- Apt. Ari Satia Nugraha SF., GDipSc., MSc-res., PhD., Fakultas Farmasi, Universitas Jember, Indonesia
- Dr. Soerya Dewi Marliyana, S.Si, M.Si, Program Studi Kimia, Universitas Sebelas Maret, Indonesia
- Dr. Apt. Nestri Handayani, S.Si, M.Si, Program Studi Farmasi, Universitas Sebelas Maret, Indonesia

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.
Salam sejahtera untuk kita semua,

Puji syukur kepada Tuhan YME atas terbitnya *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research* (JPSCR). Jurnal ini diterbitkan oleh Program Studi Farmasi FMIPA UNS, yang diharapkan menjadi media publikasi karya ilmiah terpercaya dan memberikan kontribusi bagi kemajuan khasanah kefarmasian di Indonesia.

Jurnal JPSCR lahir usaha yang sungguh-sungguh dari segenap tim redaksi dan tidak terlepas dari bantuan banyak pihak. Apresiasi dan terima kasih kami sampaikan kepada tim penyunting yang bekerja keras dalam mereview artikel demi artikel dan kepada segenap mitra bestari atas review kepakarannya. Terima kasih juga kami sampaikan kepada para akademisi dan peneliti, yang sudah menjadikan JPSCR sebagai media diseminasi hasil penelitiannya. Antusiasme dari para kontributor yang bersifat nasional tersebut merupakan modal berharga dalam kami menjaga kesinambungan dan pengembangan jurnal ini.

Akhir kata, semoga jurnal JPSCR ini dapat memberikan inspirasi keilmuan untuk lahirnya ide-ide dan temuan-temuan baru yang bermanfaat bagi komunitas ilmiah dan masyarakat secara umum. Kritik dan saran dari semua pihak senantiasa kami harapkan untuk kemajuan jurnal ini.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Surakarta, 15 Juli 2021

Editor JPSCR

DAFTAR ISI

Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Metanol dan Fraksi buah Talok (<i>Muntingia calabura</i> L.) pada Sel RAW 264.7	82-95
Tanti Azizah Sujono, Ika Trisharyanti Dian Kusumowati, Rima Munawaroh	
Faktor yang Mempengaruhi Praktik Pelaporan <i>Adverse Drug Reactions</i> (ADRs) oleh Apoteker di Beberapa Rumah Sakit di Surabaya	96-110
Tamzil Azizi Musdar, Muhammad Thariq Nadhafi, Lestiono Lestiono, Lichijati Lichijati, Umi Athiyah, Yunita Nita	
Isolasi Sinensetin dari Kumis Kucing (<i>Orthosiphon aristatus</i> Blume miq.) Varietas Putih	111-127
Fahrauk Faramayuda, Soraya Riyanti, Adella Shindy Pratiwi, Totik Sri Mariani, Elfahmi Elfahmi, Sukrasno Sukrasno	
Penelusuran dan Isolasi Fungi Tanah Muara Pelabuhan Besuki Serta Skrining Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	128-143
Mariatul Kibthiyyah, Bawon Triatmoko, Ari Satia Nugraha	
Faktor Risiko Musculoskeletal Pain pada Pasien <i>Chronic Myeloid Leukemia</i> (CML) dengan Kemoterapi Nilotinib di RSUD Dr. Moewardi	144-157
Rasmaya Niruri, Eti Poncorini Pamungkasari, Syifa Maulida Rahmah	
Review: Profil Fitokimia dan Multipotensi dari <i>Coleus amboinicus</i> (Lour.)	158-188
Rahmawati Rahmawati, Puji Astuti, Subagus Wahyuono	
Isolasi Jamur Tanah dari Muara Sungai di Desa Kilensari Kecamatan Panarukan Serta Skrining Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	189-202
Amrina Rosyada Fajriyanti, Bawon Triatmoko, Ari Satia Nugraha	
Pengaruh Media Kartu Tilik Terhadap Pengetahuan dan Perilaku Pengelolaan Dagusibu Obat di Wilayah Jakarta Pusat Berdasarkan <i>Home Pharmacy Care</i>	203-215
Adin Hakim Kurniawan, Yusmaniar Yusmaniar, Purnama Fajri	
Potensi Biji Duwet (<i>Syzygium cumini</i> (L.) (Skeels.)) Sebagai Imunomodulator Pendamping Kemoterapi: Sebuah Ulasan	216-227
Ahmad Syauqy Tafrihani, Christina Mutiara Putri Gono, Nyssa Natasia, Muthi Ikawati	
Evaluasi Terapi Antihipertensi Pada Pasien Preeklampsia Berat di Instalasi Rawat Inap RSUD Dr. Moewardi Periode Januari - Juni Tahun 2017	228-237
Wisnu Kundarto, Riskafiya Ni'matul Faizah	



Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Metanolik dan Fraksi Buah Talok (*Muntingia calabura* L.) terhadap Sel RAW 264.7

Tanti Azizah Sujono^{1*}, Ika Trisharyanti Dian Kusumowati² dan Rima Munawaroh³

¹Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jl. Achmad Yani, Pabelan, Kartasura, Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia, 57162

²Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jl. Achmad Yani, Pabelan, Kartasura, Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia, 57162

³Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jl. Achmad Yani, Pabelan, Kartasura, Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia, 57162

*email korespondensi: tanti_azizah@ums.ac.id

Received 27 December 2020, Accepted 29 May 2021, Published 15 July 2021

Abstrak: Buah talok (*Muntingia calabura* L) secara empiris telah diketahui mempunyai banyak manfaat bagi kesehatan, diantaranya adalah sebagai imunomodulator. Namun mekanisme aksinya sebagai imunomodulator belum diketahui secara pasti. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek imunomodulator ekstrak metanolik dan fraksi buah talok pada sel makrofag RAW 264.7. Sel RAW 264.7 diberi perlakuan dengan ekstrak metanolik buah talok (EMBT), fraksi heksan buah talok (FHBT), fraksi diklorometana buah talok (FDBT), fraksi etil asetat buah talok (FEABT) serta kelompok kontrol sel (KS), kontrol lipopolisakarida (LPS) dan deksametason. Viabilitas sel diukur dengan metode *MTT assay* dilanjutkan isolasi RNA, pembuatan cDNA dan PCR. Level ekspresi mRNA dari gen-gen seperti toll like receptor 4 (TLR4), interferon (IFN)- γ , interleukin (IL)-6, inducible nitric oxide synthase (iNOS), tumor necrosis factor (TNF)- α pada sel RAW 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida (LPS) dianalisis dengan metode reverse transcription-PCR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa deksametason menghambat ekspresi iNOS, IL-6, TNF- α , TLR4, IFN- γ dan NF-kB dibandingkan dengan kontrol sel dan LPS. Hal ini mengindikasikan bahwa deksametason mempunyai aktivitas antiinflamasi. Ekstrak metanolik (EMBT) dan fraksi buah talok (FHBT, FDBT dan FEABT) menurunkan ekspresi gen iNOS, TNF- α , IL-6, IFN- γ dan NF-kB jika dibandingkan dengan kontrol sel dan LPS, hal ini menunjukkan adanya aktivitas antiinflamasi. Ekstrak metanolik dan fraksi buah talok mempunyai aktivitas imunomodulator melalui penghambatan inflamasi dengan menurunkan ekspresi gen iNOS, TNF- α , IL-6, IFN- γ dan NF-kB pada sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS.

Kata kunci: *Muntingia calabura* L; *MTT assay*; sel RAW 264.7; Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

Abstract. The immunomodulatory activity of methanolic extract and its fraction of Talok fruits (*Muntingia calabura* L.) towards RAW 264.7 cells. Talok fruit (*Muntingia calabura* L) has been empirically known to have many health benefits, including as an immunomodulator. However, the mechanism of action as an immunomodulator is not certain. This study aimed to evaluate the immunomodulatory effects of talok fruit extract and fraction on RAW 264.7 macrophage cells. RAW 264.7 cells were treated with methanolic extract of talok fruit (EMBT), hexane fraction of talok fruit (FHBT), dichloromethane fraction of talok fruit (FDBT), ethyl acetate fraction of talok fruit (FEABT) as well as a cell control group, lipopolysaccharide control (LPS) and dexamethasone. After being tested for cell viability by the *MTT assay* method, then continued with RNA isolation, cDNA making and PCR. Expression levels of mRNA from toll like receptor 4 (TLR4), interferon (IFN)- γ , interleukin (IL)-6, inducible nitric oxide synthase (iNOS), tumor necrosis factor (TNF)- α in

lipopolysaccharide (LPS)-induced RAW 264.7 cells were analyzed using the reverse transcription-PCR method. The results showed that dexamethasone inhibited the expression of iNOS, IL-6, TNF- α , TLR4 and NF- κ B compared to cell control and LPS. This indicates that dexamethasone have antiinflammatory effect. Methanolic extract and fraction of talok fruits have immunomodulatory activity through inhibition of proinflammatory cytokines of iNOS, TNF- α , IL-6, IFN- γ and NF- κ B in LPS-Induced RAW 264.7 cells.

Keywords: *Muntingia calabura* L; MTT assay; RAW 264.7 cells; Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

1. Pendahuluan

Tanaman talok (*Muntingia calabura* L.) banyak dijumpai di tepi jalan sebagai tanaman peneduh, selain itu buahnya juga bisa dikonsumsi. Buah talok memiliki kandungan vitamin C yang cukup tinggi, β -karoten, flavonoid, fenolik, niasin yang berkhasiat antara lain sebagai antiinflamasi (Preethi *et al.*, 2012), antioksidan (Preethi *et al.*, 2010; Siddiqua *et al.*, 2010), antirematik (Sarimanah *et al.*, 2017) dan juga imunomodulator (Prakosa, 2014; Sujono *et al.*, 2020). Imunomodulator merupakan zat yang dapat memodulasi sistem kekebalan tubuh baik sebagai imunostimulan (meningkatkan sistem imun) ataupun immunosupresan (menurunkan sistem imun) (Sasmito, 2017).

Buah talok diduga memiliki efek imunomodulator karena mengandung senyawa golongan flavonoid dan polifenol. Kandungan flavonoid memiliki banyak aktivitas farmakologis diantaranya sebagai imunomodulator (Patel & Vajdy, 2015). Kebanyakan turunan fenolik pada tumbuhan mempengaruhi respon imun non spesifik terutama melalui peningkatan fagositosis dan limfosit serta proliferasi neutrofil (Grigore, 2017). Mekanisme aksi imunomodulator buah talok sampai saat ini belum diketahui secara pasti. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak metanolik dan fraksi etil asetat talok memiliki efek imunomodulator terhadap respon imun non spesifik dengan meningkatkan indeks fagositik (Sujono *et al.*, 2020). Namun sampai saat ini belum ada penelitian yang menguji aktivitas imunomodulator buah talok terhadap ekspresi gen inflamasi seperti iNOS, TNF- α , dan IL-6 pada sel RAW 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida (LPS) menggunakan metode *reverse transcription-PCR*.

Makrofag merupakan salah satu sel imun yang bisa mengekspresikan reseptor TLR4 yang dapat mengenali endotoksin lipopolisakarida (LPS) dari bakteri Gram negatif. Selanjutnya akan memberi sinyal transduksi melalui TLR4 dan mengaktifkan respon imun *innate* serta menstimulasi berbagai protein yang penting bagi fungsi makrofag (Baratawidjaja & Rengganis, 2016). TLR4 bisa menstimulasi produksi faktor transkripsi NF- κ B yang memproduksi berbagai protein dan sejumlah sitokin proinflamasi seperti iNOS, IL-6, TNF- α yang berperan dalam respon imun (Muniandy *et al.*, 2018). Senyawa imunomodulator dapat

mempengaruhi ekspresi gen proinflamasi tersebut. Inflamasi merupakan respon biologis yang penting terhadap cedera. Selama proses peradangan, makrofag akan memproduksi sitokin dan melepaskan mediator inflamasi. Untuk mengobati inflamasi yang bersifat kronis diperlukan suatu antiinflamasi (Dewi *et al.*, 2015). Buah talok dapat dimanfaatkan sebagai antiinflamasi (Preethi *et al.*, 2012). Yahfoufi *et al* menyatakan bahwa senyawa polifenol dapat memodulasi sistem imun dengan mempengaruhi regulasi sel yang berperan dalam imun, sintesis sitokin proinflamasi, dan juga ekspresi gen (Yahfoufi *et al.*, 2018).

Sel RAW 264.7 merupakan *cell line* monosit atau makrofag yang berasal dari mencit Balb/c. Pada banyak penelitian, sel RAW 264.7 digunakan sebagai model makrofag untuk mempelajari respon imun terutama *innate*. Berdasarkan hal di atas maka penelitian ini penting dilakukan untuk mengetahui aktivitas imunomodulator ekstrak dan fraksi buah talok terhadap ekspresi gen-gen yang terlibat pada proses inflamasi yang berperan pada regulasi sistem imun menggunakan kultur sel RAW 264.7 *in vitro*.

2. Bahan dan Metode

2.1 Bahan

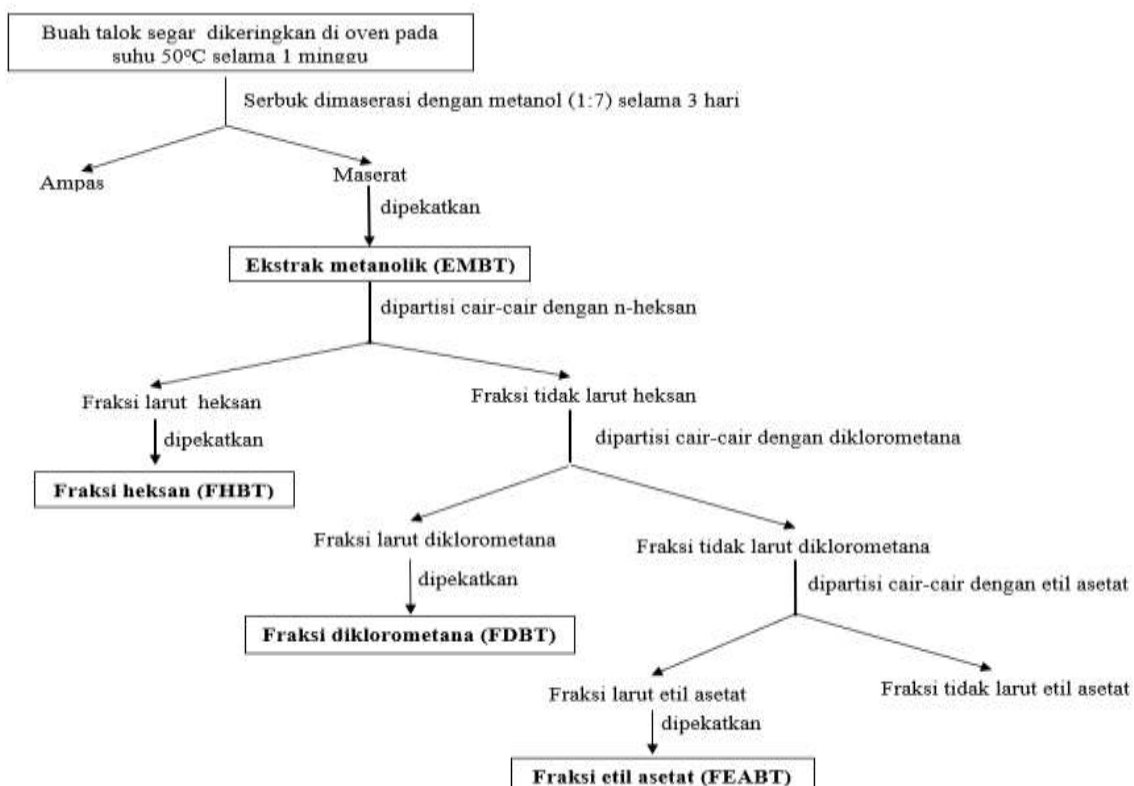
Buah talok segar diperoleh dari daerah Bantul, Yogyakarta. Identifikasi tanaman talok dilakukan di Laboratorium Farmakognosi Jurusan Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dengan nomor: 18.2.9/UN1/FFA/BF/PT/2019. Penyari untuk maserasi dan fraksinasi meliputi metanol (teknis), n-heksan (teknis), diklorometana (Merck), etil asetat (teknis). Sel RAW 264.7 diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan (FKKMK) Universitas Gadjah Mada. Media yang digunakan untuk memelihara sel RAW yaitu Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) yang disuplementasi dengan fetal bovine serum (FBS) 10% diperoleh dari Laboratorium FKKMK Universitas Gadjah Mada. *Lipopolysaccharides* dari *Eschericia coli* 0111.B4 (Sigma-Aldrich), *Dexamethasone* injeksi (Harsen). Total RNA Mini Kit (Geneaid) digunakan untuk isolasi RNA sel RAW, Rever Tra Ace- α (TOYOBO) digunakan untuk membuat cDNA, GoTaq[®]Green (Promega), Nuclease-Free Water (Promega). Bahan yang digunakan untuk elektroforesis meliputi TBE (Vivantis), Agarose gel (GeneDireX), FluoroVue[™] Nucleic Acid Gel Stain (SMOBIO), AccuBand[™] 100 bp+3K DNA ladder II (SMOBIO).

2.2 Metode

2.2.1 Ekstraksi dan fraksinasi buah talok

Buah talok segar sebanyak 4,9 kg buah talok segar (*M. calabura* L.) dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya buah dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 7 hari. Buah

talok yang sudah kering lalu diblender menghasilkan 1,543 kg serbuk kering. Selanjutnya serbuk dimaserasi menggunakan 10,5 liter metanol selama 3 hari. Filtrat diuapkan menggunakan rotary evaporator untuk mendapatkan ekstrak metanolik kental, selanjutnya dipekatkan di atas waterbath selama 3 hari menghasilkan ekstrak metanolik kental buah talok (EMBT).



Gambar 1. Skema ekstraksi dan fraksinasi buah talok (*Muntingia calabura* L.) menggunakan metode partisi cair-cair.

Fraksinasi dilakukan setiap 10 gram ekstrak metanolik buah talok (EMBT) dilarutkan dalam 100 mL air kemudian dilakukan partisi cair-cair menggunakan 100 mL heksan sampai fase heksan jernih (3x partisi) dalam corong pisah. Fase larut heksan selanjutnya diuapkan dengan rotary evaporator lalu dipekatkan di atas water bath selama 3 hari, diperoleh fraksi heksan (FHBT). Selanjutnya tiap 100 mL fase tak larut heksan dipartisi cair-cair menggunakan diklorometana 100 mL sampai jernih (3x partisi). Fase larut diklorometana dipisahkan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator, selanjutnya dipekatkan di atas water bath suhu 60°C selama 3 hari, diperoleh fraksi diklorometana (FDBT). Proses selanjutnya tiap 100 mL fase tak larut diklorometana dipartisi cair-cair dengan 100 mL etil asetat sampai jernih (3x partisi). Fase larut etil asetat dipisahkan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator suhu 50°C, selanjutnya dipekatkan di atas water bath suhu 60°C selama 3 hari, diperoleh fraksi etil asetat (FEABT). Skema proses ekstraksi dan fraksinasi buah talok

(*Muntingia calabura* L.), yakni ekstrak metanolik (EMBT), fraksi heksan (FHBT), fraksi diklorometana (FDBT) dan fraksi etil asetat (FEABT) dapat dilihat pada Gambar 1.

2.2.2 Uji aktivitas imunomodulator menggunakan sel RAW 264.7

- Uji viabilitas sel menggunakan LPS

Uji viabilitas sel RAW 264.7 mengacu pada penelitian sebelumnya (Rosidah *et al.*, 2019) dengan sedikit modifikasi pada kepadatan sel yang digunakan. Sel RAW 264.7 ditumbuhkan dalam medium komplit (MK-DMEM) yang berisi DMEM, Penicillin-Streptomycin 2%, Fungizone (Amphotericin B) 0,5% dan FBS 10%. Penicillin-Streptomycin sebagai antibakteri, dan Fungizone (Amphotericin B) sebagai antifungi. Sel ditanam dengan kepadatan 4000 sel/well, sebanyak 100 μ L tiap well pada mikroplate 96 well dan diinkubasi dengan inkubator CO₂ pada suhu 37°C selama 24 jam, selanjutnya media dibuang dan diberi ekstrak dan fraksi buah talok sebanyak 100 μ L tiap well dengan seri konsentrasi 400, 200, 100, 50, 25 dan 12,5 μ g/mL.

Seri konsentrasi ekstrak dan fraksi buah talok dibuat dengan cara terlebih dulu disiapkan MK-DMEM yang sudah mengandung LPS 1 μ g/mL (0,1 μ g/100 μ L), yang dibuat dengan cara melarutkan 1 mg LPS dalam 0,5 mL PBS (stok LPS 2000 μ g/mL) dengan rumus pengenceran lalu diambil 5 μ L LPS stok ditambah MK-DMEM ad 10.000 μ L). Selanjutnya ditimbang 10 mg ekstrak atau fraksi buah talok, lalu dilarutkan dalam 100 μ L DMSO (diperoleh konsentrasi 100.000 μ g/mL). Setelah itu dibuat larutan stok ekstrak atau fraksi buah talok 1000 μ g/mL dengan rumus pengenceran (diambil 10 μ L dari stok awal ditambah 990 μ L MK-DMEM yang sudah mengandung LPS 1 μ g/mL). Selanjutnya dari stok 1000 μ g/mL dibuat 6 seri konsentrasi yaitu 400, 200, 100, 50, 25, 12,5 μ g/mL.

Microplate 96 well selanjutnya diberi ekstrak dan fraksi buah talok lalu dinkubasi kembali selama 24 jam. Selanjutnya media dibuang lalu diberi MTT (3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) sebanyak 100 μ L tiap well (cara membuat: 1 mL MTT 5 mg/mL ditambah MK-DMEM ad 10 mL), 4 jam kemudian diberi 100 μ L *stopper* SDS (sodium dodecyl sulphate) 10% dalam HCl 0,01 N. Setelah diinkubasi selama 24 jam, absorbansi diukur menggunakan *microplate reader* (BIO RAD Microplate Reader Benchmark) pada panjang gelombang 550 nm.

- Isolasi RNA

Sel RAW 264.7 dengan kepadatan 500.000 sel/well ditanam pada 6-well plate, tiap well berisi 2 mL (kepadatan 500.000 sel/2 mL). Kemudian diinkubasi dalam inkubator CO₂ suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya media diganti dengan media baru lalu diinduksi dengan lipopolisakarida (2 μ g/mL) dan diinkubasi kembali selama 6 jam, lalu ditambahkan larutan uji

ekstrak metanolik buah talok (EMBT), fraksi heksan buah talok (FHBT), fraksi diklorometana buah talok (FDBT), fraksi etil asetat buah talok (FEABT) dengan konsentrasi 25 µg/mL (konsentrasi ini diperoleh dari hasil uji viabilitas sel di mana pada konsentrasi tersebut viabilitas sel di atas 90%) dan deksametason 2,5 µg/mL. Selanjutnya diinkubasi kembali selama 24 jam, lalu media dipindahkan dalam tabung, sel dicuci sebanyak 1 kali dengan 2 mL PBS steril dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit, lapisan paling atas dibuang dan endapan dikumpulkan kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi RNA menggunakan Total RNA mini kit (Geneaid) berdasarkan protokol dari pabrikan yang ada di leafletnya.

- Pembuatan cDNA

RNA yang telah diperoleh selanjutnya dibuat cDNA, yakni sebanyak 3000 ng RNA ditambah DNase RNase free water hingga volume total 12 µL. Sebanyak 8 µL larutan campuran (5x RT-buffer 4 µL, random primer 1 µL, dNTP 2 µL, Rever Tra-Ace 1 µL) ditambahkan pada tiap microtube yang berisi RNA, kemudian diresuspensi dan dilakukan PCR dengan kondisi 30°C selama 10 menit, 42°C selama 60 menit, dan 99°C selama 5 menit. Produk PCR hasil pembuatan cDNA diukur konsentrasinya dengan menggunakan alat nanodrop (NanoQuant Plate TECAN Spark). Selanjutnya dibuat stok DNA 100 ng sebanyak 100 µL untuk RT-PCR.

Tabel 1. Sekuen primer oligonukleotida mencit yang digunakan untuk reverse transcriptase-PCR dan suhu annealingnya.

Gen		Sekuen primer	ukuran (bp)	Suhu Annealing (°C)
TLR4	F	GGGCCTAAACCCAGTCTGTTTG	118	56
	R	GCCCGGTAAGGTCCATGCTA		
NF-kB	F	GCGTACACATTCTGGGGAGT	179	57
	R	ACCGAAGCAGGAGCTATCAA		
IFN- γ	F	TCAAGTGGCATAGATGTGGAAGAA	92	58
	R	TGGCTCTGCAGGATTTTCATG		
IL-6	F	CGCACTAGGTTTGCCGAGTA	141	58
	R	CCCCAATTTCCAATGCTCTCC		
iNOS	F	CGAAACGCTTCACTTCCAA	311	60
	R	TGAGCCTATATTGCTGTGGCT		
TNF-α	F	TGTGCCGCCGCTGTCTGCTTCACGCT	374	55
	R	GATGAGGAAAGACACCTGGCTGTAGA		
β-actin	F	TGGAATCCTGTGGCATCCATGAAAC	349	55
	R	TAAACGCAGCTCAGTAACAGTCCG		

- Analisis ekspresi gen

Ekspresi gen iNOS, TNF-α, IL-6, IFN- γ, NF-kB, TLR4 dan β-actin diperiksa dengan cara mengambil 1 µL cDNA 100 ng/µL ditambahkan sampai 25 µL ((PCR Master Mix (GoTaq Green) 12,5 µL, primer forward 1 µL, primer reverse 1 µL, DNase RNase free water

9,5 µL). Ekspresi gen TNF- α , IL-6, iNOS, NF-kB, TLR4, IFN- γ dan β -actin ditentukan dengan metode reverse transcriptase-PCR. Sedangkan primer oligonukleotida untuk TNF- α , IL-6, iNOS, NF-kB, TLR4, IFN- γ dan β -actin dirancang berdasarkan program seleksi primer pada website dari Gen Bank database (Auliafendri *et al.*, 2019). Sekuen primer beserta suhu annealing dapat dilihat pada Tabel 1.

PCR terdiri dari 35 siklus amplifikasi dan setiap siklus dilakukan selama 30 detik pada 95°C (denaturasi), 1 menit pada suhu annealing dan 1 menit pada 72°C (elongasi) dalam *thermal cycler* (Bio-Rad). Sebagai kontrol internal digunakan β -actin yang merupakan *house keeping gene* untuk menstandarisasi tingkat ekspresi relatif untuk semua biomarker (Yanti *et al.*, 2011). Produk PCR dianalisis dengan elektroforesis menggunakan agarose 2% serta FluoroVue™ (Nucleic Acid Gel Stain, SMOBIO) 10.000X no. katalog NS1000 500 µL x 1 vial sebagai pewarna. Gel divisualisasi densitometri menggunakan software Gel-Doc (Bio-Rad).

2.2.3 Analisis data

Semua data disajikan dalam bentuk rata-rata $\pm$ *standard error of the mean* (SEM) dengan replikasi sebanyak 3 kali. Data dianalisis dengan metoda Anova 1 arah dengan taraf kepercayaan 95%. Jika terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dilanjutkan uji post hoc LSD (*Least Significant difference*) menggunakan software SPSS 22.

3. Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi dengan pelarut metanol bertujuan untuk menarik senyawa yang bersifat polar, sedangkan fraksinasi cair-cair menggunakan pelarut dengan polaritas yang berbeda (n-heksan, diklorometana, dan etil asetat) untuk menarik senyawa yang bersifat non polar hingga semipolar. Total sebanyak 467,8 g ekstrak metanolik buah talok (30,30%), dipisahkan menggunakan partisi cair-cair sehingga diperoleh fraksi heksan 2,40 g (0,50%); fraksi diklorometana 2,80 g (0,59%); dan fraksi etil asetat 6,60 g (1,40%). Fraksi etil asetat (FEABT) mempunyai konsistensi yang lebih kering jika dibandingkan dengan fraksi heksan (FHBT) dan fraksi diklorometana (FDBT).

Kandungan flavonoid dan fenolik dalam ekstrak metanolik buah talok diduga bertanggung jawab atas aktivitas imunomodulatornya (Pereira *et al.*, 2018). Ekstrak etanol dan etil asetat buah talok positif mengandung flavonoid dan fenolik (Senet *et al.*, 2012).

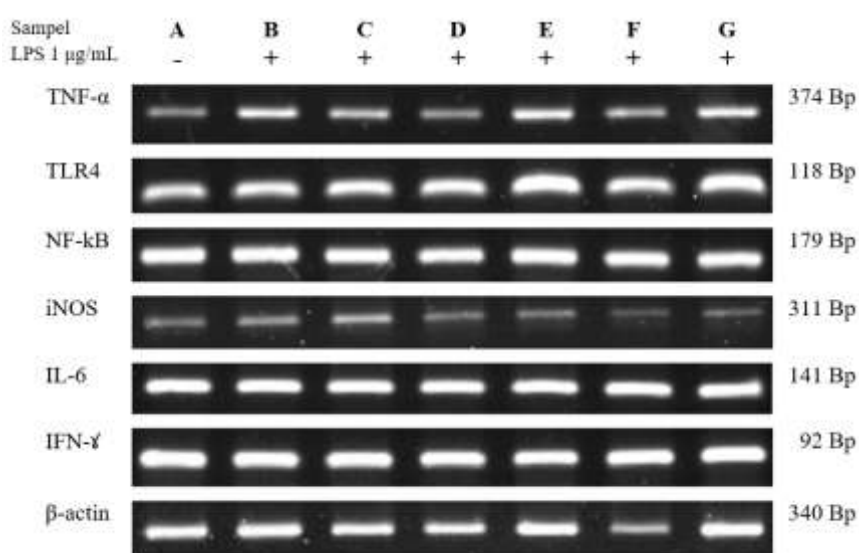
3.1 Aktivitas imunomodulator buah talok pada sel RAW 264.7 *in vitro*

Pada penelitian ini digunakan lipopolisakarida (LPS) yang secara luas dikenal sebagai penginduksi produksi sitokin inflamatori yang akan menstimulasi produksi iNOS selama proses inflamasi pada makrofag (Joo *et al.*, 2014).

Uji viabilitas sel dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak dan fraksi buah talok terhadap viabilitas sel RAW 264.7 serta untuk menentukan konsentrasi ekstrak dan fraksi buah talok yang tidak toksik saat digunakan pengujian aktivitas imunomodulator. Konsentrasi senyawa uji (ekstrak dan fraksi buah talok) yang diberikan adalah 12,5, 25, 50, 100, 200 dan 400 $\mu\text{g/mL}$. Hasil uji viabilitas sel menunjukkan bahwa ekstrak metanolik dan fraksi buah talok pada konsentrasi 12,5, 25 dan 50 $\mu\text{g/mL}$ mempunyai persentase viabilitas sel tertinggi dimana ekstrak tidak menunjukkan toksisitas terhadap sel RAW 264.7 yakni viabilitas sel di atas 90% (Tabel 2). Keterbatasan dalam penelitian ini adalah tidak dilakukannya uji viabilitas sel terhadap fraksi diklorometana (FDBT) dan fraksi etil asetat (FEABT).

Tabel 2. Nilai rata-rata % viabilitas dari ekstrak metanolik buah talok (EMBT) dan fraksi heksan buah talok (FHBT).

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	% rata-rata viabilitas sel $\pm$ SEM	
	EMBT	FHBT
12,5	99,70 $\pm$ 2,18	95,10 $\pm$ 2,60
25	94,26 $\pm$ 0,55	93,47 $\pm$ 0,78
50	93,18 $\pm$ 1,20	98,42 $\pm$ 0,88
100	79,03 $\pm$ 1,72	92,88 $\pm$ 2,43
200	45,10 $\pm$ 2,56	89,52 $\pm$ 1,31



Gambar 2. Efek ekstrak dan fraksi buah talok terhadap ekspresi gen pada sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS 1 $\mu\text{g/mL}$ selama 6 jam. Total RNA diisolasi dan RT-PCR dilakukan dengan menggunakan primer TNF- α , TLR4, NF-kB, iNOS, IL-6, IFN- γ , β -actin. Kontrol sel (A), LPS (B), FDBT (C), FEABT (D), EMBT (E), FHBT (F), deksametason 2,5 $\mu\text{g/mL}^{-1}$ (G). β -actin digunakan sebagai kontrol internal. LPS (Lipopolysaccharide), RT-PCR (Reverse Transcription-PCR), iNOS (*Inducible Nitric Oxide Synthase*) IL (interleukin)-6, TLR4 (Toll Like Receptor 4), NF-kB (Nuclear Factor kappa B), Bp (*Base Pair*).

Makrofag yang teraktivasi akan mencegah terhadap invasi patogen dengan mengeluarkan mediator inflamasi seperti *nitric oxide* (NO) dan sitokin seperti TNF- α dan

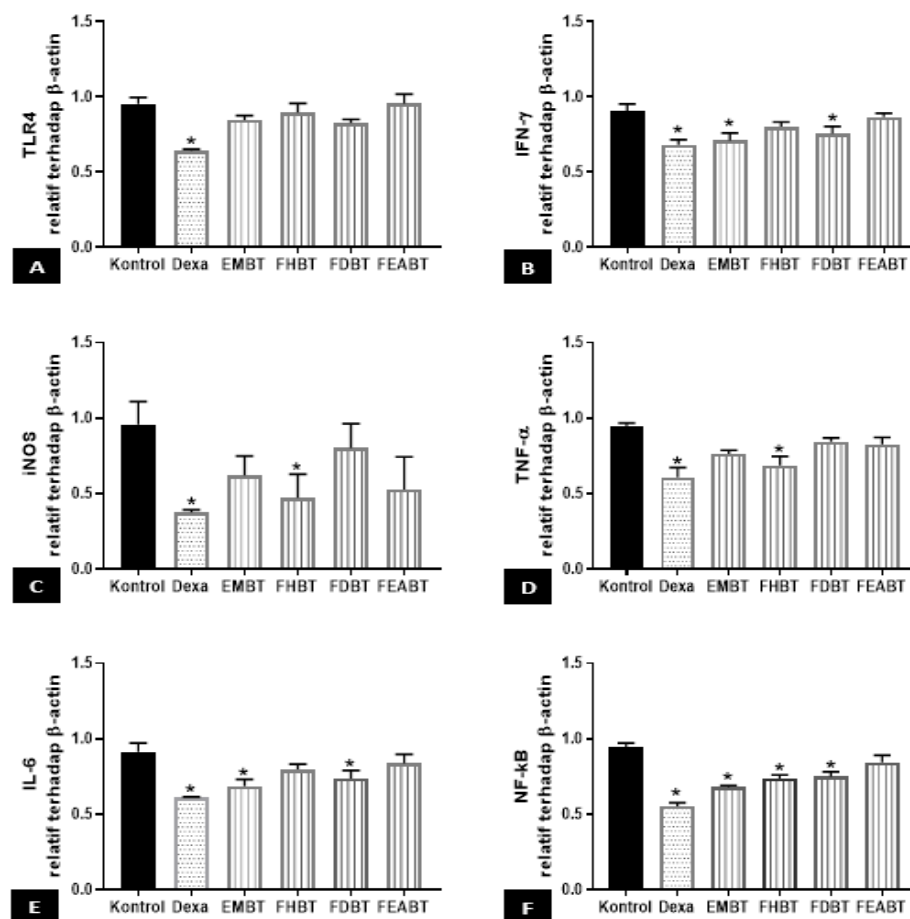
interleukin (Kwon *et al.*, 2016). Hasil ekspresi gen akibat pemberian FDBT, FEABT, EMBT dan FHBT serta deksametason dianalisis menggunakan metode reverse transcriptase-PCR. Hasil dapat dilihat pada Gambar 2.

Pada penelitian ini digunakan lipopolisakarida (LPS), suatu substansi yang digunakan untuk mengaktifkan makrofag. LPS merupakan endotoksin yang berasal dari membran luar sel bakteri Gram negatif yang dapat mengaktifkan makrofag melalui jalur aktivasi persinyalan seluler, sehingga dapat menstimulasi transkripsi gen-gen seperti iNOS, dan sitokin yang terkait makrofag seperti IL-6, TNF- α (Kwon *et al.*, 2016). Makrofag yang teraktivasi akan memicu terjadinya inflamasi dengan melepaskan mediator inflamasi seperti TNF- α , IL-6 (Fard *et al.*, 2015). Deksametason pada penelitian ini digunakan sebagai obat standar yang berkhasiat sebagai antiinflamasi dan imunosupresan. Deksametason merupakan glukokortikoid sintetis yang bersifat imunosupresan kuat yang dapat menghambat produksi sitokin yang diinduksi oleh lipopolisakarida (Chuang *et al.*, 2017).

Gambar 2 menunjukkan bahwa deksametason menunjukkan penghambatan pada ekspresi iNOS, IL-6, TNF- α , TLR4 dan NF-kB dibandingkan dengan kontrol LPS. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa efek deksametason yakni sebagai imunosupresan. IL-6, TNF- α merupakan sitokin proinflamatori, sedangkan NF-kB merupakan faktor transkripsi yang mengontrol sejumlah gen penting pada proses imunitas dan inflamasi (Martins *et al.*, 2016).

Makrofag merupakan sel imun bawaan (*innate immune*) yang mempunyai peranan penting pada respon inflamasi. Aktivasi makrofag oleh stimulus inflamasi seperti lipopolisakarida (LPS) akan memicu pelepasan berbagai mediator inflamasi dan sitokin seperti IL-6 dan TNF- α (Murray & Wynn, 2011). TLR4 (*toll like receptor 4*) merupakan suatu protein homologous pada membran sel APC (*antigen presenting cell*) yang dapat mengenali lipopolisakarida (LPS) dari bakteri Gram negatif. Selanjutnya TLR4 yang sudah mengenali LPS dapat memicu respon *innate immune* dengan menginduksi sinyal transduksi yang memproduksi sitokin proinflamasi untuk melawan patogen (Hikmah & Dewanti, 2011). Pengikatan LPS dengan TLR4 akan menginduksi fosforilasi dan akhirnya mengaktifkan NF-kB (Nuclear Factor-kappa B) suatu faktor yang mengatur transkripsi DNA untuk mengatur ekspresi gen yang menyandi protein pada berbagai proses biologis. Dengan adanya stimulasi seluler, selanjutnya akan menginduksi transkripsi gen proinflamasi dengan menghasilkan sitokin proinflamasi seperti siklooksigenase-2 (COX-2), iNOS, IL-6, IL-1 β , TNF- α dan prostaglandin (PGE2) (Muniandy *et al.*, 2018). Inflamasi merupakan bentuk pertahanan tubuh terhadap kerusakan jaringan, masuknya agen asing, termasuk infeksi. Namun apabila respon

inflamasi terjadi terus menerus (jangka panjang) dapat merusak jaringan sehingga dapat menimbulkan berbagai penyakit kronis seperti diabetes, gangguan jantung, sehingga untuk mencegah hal tersebut diperlukan suatu agen antiinflamasi (Ahmed, 2011). Gambar 2 menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi buah talok (EMBT, FHBT, FDBT dan FEABT) menurunkan ekspresi gen inflamasi seperti iNOS, TNF- α , IL-6 dibandingkan kelompok kontrol LPS. Namun efek antiinflamasi FHBT relatif lebih besar dalam menurunkan ekspresi gen inflamasi seperti NF-kB, iNOS dan TNF- α dibandingkan EMBT dan FDBT, hal ini dimungkinkan karena FHBT yang bersifat non polar. Sementara FEABT juga menunjukkan penurunan dalam ekspresi gen IFN- γ , iNOS, TNF- α , IL-6, NF-kB, namun penurunannya tidak signifikan dibanding kontrol LPS (Gambar 2). Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa buah talok mempunyai aktivitas sebagai antiinflamasi (Preethi *et al.*, 2012).



Gambar 2. Ekspresi gen TLR4 (A), IFN- γ (B), iNOS (C), TNF- α , IL-6 (E), NF-kB (F) relatif terhadap β -actin pada sel RAW 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida (n=3). * menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan kelompok kontrol LPS ($P < 0,05$)

Buah talok memiliki efek antiinflamasi, hal ini dimungkinkan karena adanya kandungan kimia seperti flavonoid, fenolik, triterpenoid yang diduga bisa menghambat ekspresi gen-gen

proinflamatori (Tungmunthum *et al.*, 2018; Yahfoufi *et al.*, 2018). Beberapa studi *in vitro* dan *in vivo* sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa polifenol dapat menekan makrofag melalui penghambatan berbagai regulator respon inflamasi yakni dengan menghambat inducible nitric oxide synthase (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX-2) dan mengurangi produksi TNF- α , interleukin 1 β (IL-1 β) dan ekspresi IL-6 (González *et al.*, 2011). Sedangkan mekanisme flavonoid sebagai antiinflamasi antara lain melalui modulasi sinyal transduksi dengan menurunkan transkripsi gen proinflamatori seperti NF- κ B, menurunkan produksi sitokin TNF- α serta interleukin seperti IL-1, IL-6, selain itu juga memodulasi enzim proinflamatori dengan menurunkan mediator inflamasi seperti nitrit oksid (NO), leukotrien dan prostaglandin (García-Lafuente *et al.*, 2009). Sitokin lain seperti IFN- γ juga bisa dihambat oleh flavonoid seperti quercetin (Okamoto *et al.*, 2002; Yahfoufi *et al.*, 2018).

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa fraksi heksan buah talok (FHBT) mempunyai kandungan total fenolik dan flavonoid yang paling kecil, dibandingkan ekstrak dan fraksi lainnya. Kadar total fenolik (gallic acid equivalent) FHBT, FDBT, EMBT, dan FEABT berturut-turut 111,16 $\pm$ 2,66; 167,22 $\pm$ 3,06; 279,09 $\pm$ 6,20; dan 301,06 $\pm$ 4,55 mg GAE/g ekstrak. Sedangkan kadar flavonoid (quercetin equivalent) berturut-turut 1,67 $\pm$ 0,31; 30,68 $\pm$ 1,35; 40,74 $\pm$ 2,19 dan 18,58 $\pm$ 0,39 mg QE/g ekstrak (Sujono *et al.*, 2020). Buah talok selain mengandung karbohidrat, flavonoid, fenolik, juga mengandung terpenoid (Pereira *et al.*, 2018). Meskipun kandungan fenolik dan flavonoid dalam FHBT lebih kecil dibanding fraksi yang lain, namun efek antiinflamasi yang dihasilkan dimungkinkan dari kandungan terpenoidnya. Studi sebelumnya menunjukkan bahwa terpenoid berperan pada proses antiinflamasi melalui mekanisme penghambatan pada faktor transkripsi gen NF- κ B, ekspresi sitokin proinflamatori seperti TNF- α , IL-6, IL-4, IL-2 dan juga iNOS (Kim *et al.*, 2020; Prakash, 2017).

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak buah talok meningkatkan ekspresi gen TLR4 dibanding deksametason. Penelitian lanjutan baik menggunakan uji *in siliko* maupun uji *in vitro* diperlukan untuk pengembangan agen imunomodulator. Uji *in siliko* *Molecular Docking* perlu dilakukan diantaranya untuk memastikan adanya interaksi kandungan aktif dalam ekstrak tanaman dengan protein reseptor *toll like receptor* (TLR) (Darmawan *et al.*, 2017). Salah satu kandungan kimia dalam buah talok yang diduga mempunyai efek imunomodulator adalah flavonoid. Bioavailabilitas flavonoid relatif kurang baik jika diberikan secara peroral sehingga perlu dibuat formulasi dalam bentuk nanopartikel (Fitri *et al.*, 2020).

4. Kesimpulan

Ekstrak metanolik dan fraksi buah talok (*Muntingia calabura* L.) mempunyai efek imunomodulator melalui penghambatan inflamasi dengan menurunkan ekspresi gen iNOS, TNF- α , IL-6, NF-kB, dan IFN- γ pada sel makrofag RAW 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida.

Ucapan Terimakasih

Kami berterima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia atas pendanaan penelitian PDUPT tahun 2019. Terima kasih kepada dr. Nur Arfian, Ph.D (FKKMK UGM) dan Dr. Denny Satria (FF USU) yang telah memberikan primer oligonukleotida.

Deklarasi Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

Daftar Pustaka

- Ahmed, A. U. (2011). An overview of inflammation: Mechanism and consequences. *Frontiers of Biology in China*, 6(4), 274–281.
- Auliafendri, N., Rosidah, Yuandani, Suryani, S., and Satria, D. (2019). The immunomodulatory activities of *Picria Fel-Terrae* four herbs towards RAW 264.7 cells. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 7(1), 24–28.
- Baratawidjaja, K. G., and Rengganis, I. (2016). *Imunologi Dasar* (11th ed.). Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Chuang, T. Y., Cheng, A. J., Chen, I. T., Lan, T. Y., Huang, I. H., Shiau, C. W., Hsu, C. L., Liu, Y. W., Chang, Z. F., Tseng, P. H., and Kuo, J. C. (2017). Suppression of LPS-induced inflammatory responses by the hydroxyl groups of dexamethasone. *Oncotarget*, 8(30), 49735–49748.
- Darmawan, K. H., Martien, R., Erlangga, N. D., Sitohang, S. M., and Pambudi, H. (2017). Utilization Of Nano Ethanolic Extract Combination Chamber Bitter (*Phyllanthus Niruri* L.) And Garlic (*Allium Sativum* L.) As A Natural Immunomodulator In Nanoherbal Development, In Silico And In Vitro Study. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 2(02), 110.
- Dewi, K., Widyarto, B., Erawijantari, P., and Widowati, W. (2015). In vitro study of *Myristica fragrans* seed (Nutmeg) ethanolic extract and quercetin compound as anti-inflammatory agent. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 3(9), 2303–2310.
- Fard, M., Arulselvan, P., Karthivashan, G., Adam, S., and Fakurazi, S. (2015). Bioactive extract from *moringa oleifera* inhibits the pro-inflammatory mediators in lipopolysaccharide stimulated macrophages. *Pharmacognosy Magazine*, 11(44), 556.
- Fitri, D., Kiromah, N. Z. W., and Widiastuti, T. C. (2020). Formulasi Dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Pada Berbagai Variasi Komposisi Kitosan Dengan Metode Gelasi Ionik. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 5(1), 61.
- García-Lafuente, A., Guillaumon, E., Villares, A., Rostagno, M. A., and Martínez, J. A. (2009). Flavonoids as anti-inflammatory agents: Implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation Research*, 58(9), 537–552.
- González, R., Ballester, I., López-Posadas, R., Suárez, M. D., Zarzuelo, A., Martínez-Augustín, O., and Sánchez de Medina, F. (2011). Effects of flavonoids and other

- polyphenols on inflammation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(4), 331–362.
- Grigore, A. (2017). Plant Phenolic Compounds as Immunomodulatory Agent. In *Phenolic Compound-Biological Activity* (pp. 75–88).
- Hikmah, N., and Dewanti, I. D. A. R. (2011). Peran Toll Like Receptors (TLRs) pada Innate Immunity (the Role of Toll Like REceptors to Innate Immunity). *Stomatognatic*, 8(1), 21–26.
- Joo, T., Sowndhararajan, K., Hong, S., Lee, J., Park, S. Y., Kim, S., and Jhoo, J. W. (2014). Inhibition of nitric oxide production in LPS-stimulated RAW 264.7 cells by stem bark of *Ulmus pumila* L. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(5), 427–435.
- Kim, T., Song, B., Cho, K. S., and Lee, I. S. (2020). Therapeutic potential of volatile terpenes and terpenoids from forests for inflammatory diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(6).
- Kwon, D. H., Cheon, J. M., Choi, E.-O., Jeong, J. W., Lee, K. W., Kim, K. Y., Kim, S. G., Kim, S., Hong, S. H., Park, C., Hwang, H.-J., and Choi, Y. H. (2016). The Immunomodulatory Activity of Mori folium, the Leaf of *Morus alba* L., in RAW 264.7 Macrophages In Vitro . *Journal of Cancer Prevention*, 21(3), 144–151.
- Martins, G. R., Gelaleti, G. B., Moschetta, M. G., Maschio-Signorini, L. B., and De Campos Zuccari, D. A. P. (2016). Proinflammatory and Anti-Inflammatory Cytokines Mediated by NF- κ B Factor as Prognostic Markers in Mammary Tumors. *Mediators of Inflammation*, 2016.
- Muniandy, K., Gothai, S., Badran, K. M. H., Kumar, S. S., Esa, N. M., and Arulselvan, P. (2018). Suppression of proinflammatory cytokines and mediators in LPS-Induced RAW 264.7 macrophages by stem extract of *alternanthera sessilis* via the inhibition of the NF- κ B pathway. *Journal of Immunology Research*, 2018.
- Murray, P. J., and Wynn, T. A. (2011). Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nature Reviews Immunology*, 11(11), 723–737.
- Okamoto, I., Iwaki, K., Koya-Miyata, S., Tanimoto, T., Kohno, K., Ikeda, M., and Kurimoto, M. (2002). The flavonoid kaempferol suppresses the graft-versus-host reaction by inhibiting type 1 cytokine production and CD8⁺ T cell engraftment. *Clinical Immunology*, 103(2), 132–144.
- Patel, S., and Vajdy, M. (2015). Induction of cellular and molecular immunomodulatory pathways by vitamin A and flavonoids. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 15(10), 0.
- Pereira, G. A., Arruda, H. S., de Moraes, D. R., Eberlin, M. N., and Pastore, G. M. (2018). Carbohydrates, volatile and phenolic compounds composition, and antioxidant activity of calabura (*Muntingia calabura* L.) fruit. *Food Research International*, 108(March), 264–273.
- Prakash, V. (2017). Terpenoids as source of anti-inflammatory compounds. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(3), 68–76.
- Prakosa, A. P. (2014). *Imunomodulasi Ekstrak Buah Talok (Muntingia calabura Linn) terhadap Makrofag Peritoneum Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Actinobacillus actionycetemcomitans*. Universitas Jendral Soedirman.
- Preethi, K., Premasudha, P., and Keerthana, K. (2012). Anti-inflammatory activity of *Muntingia calabura* fruits. *Pharmacognosy Journal*, 4(30), 51–56.
- Preethi, K., Vijayalakshmi, N., Shamna, R., and Sasikumar, J. M. (2010). In Vitro Antioxidant Activity of Extracts from Fruits of *Muntingia calabura* Linn . from India. *Pharmacognosy Journal*, 2(14), 11–18.
- Rosidah, Yuandani, Widjaja, S. S., Lubis, M. F., and Satria, D. (2019). The Immunomodulatory Activities of *Saurauia vulcani* Korth Leaves towards RAW 264 . 7 cell. *International Summit on Science Technology and Humanity (ISETH)*, 586–593.

- Sarimanah, J., Ketut Adnyana, I., Sukandar, E. Y., and Kurniati, N. F. (2017). The antirheumatic activity of *Muntingia calabura* L. Leaves ethanol extract and its fraction. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(1), 84–86.
- Sasmito, E. (2017). *Imunomodulator Bahan Alami*. Rapha Publising Penerbit ANDI Yogyakarta.
- Senet, M. R. M., Parwata, I. M. O. A., and Sudiarta, I. W. (2012). Kandungan Total Fenol dan Flavonoid dari Buah Kersen (*Muntingia calabura*) serta Aktivitas Antioksidannya. *Jurnal Kimia*, 11(2), 187–193.
- Siddiqua, A., Premakumari, K. B., Sultana, R., Vithya, and Savitha. (2010). Antioxidant activity and estimation of total phenolic content of *Muntingia calabura* by colorimetry. *International Journal of ChemTech Research*, 2(1), 205–208.
- Sujono, T. A., Kusumowati, I. T. D., and Munawaroh, R. (2020). Immunomodulatory Activity of *Muntingia calabura* L Fruits using Carbon Clearance Assay and Their Total Flavonoid and Phenolic Contents. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 13(2), 140–145.
- Tungmunthum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A., and Yangsabai, A. (2018). Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview. *Medicines*, 5(3), 93.
- Yahfoufi, N., Alsadi, N., Jambi, M., and Matar, C. (2018). The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols. *Nutrients*, 10(11), 1–23.
- Yanti, Pramudito, T. E., Nuriyanti, N., and Juliana, K. (2011). Lemon Pepper Fruit Extract (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) Suppresses the Expression of Inflammatory Mediators in Lipopolysaccharide-Induced Macrophages In Vitro. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 7(4), 190–195.



© 2021 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).



Faktor yang Mempengaruhi Praktik Pelaporan Adverse Drug Reactions (ADRs) oleh Apoteker di Beberapa Rumah Sakit di Surabaya

Tamzil Azizi Musdar¹, Muhammad Thariq Nadhafi², Lestiono³, Lichijati⁴, Umi Athiyah⁵ dan Yunita Nita^{5*}

¹ Program Magister Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Jl. Dharmawangsa No.4-6, Airlangga, Gubeng, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60286

² Instalasi Farmasi, Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Soetomo, Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo No.6-8, Airlangga, Gubeng, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60286

³ Departemen Farmasi, Rumah Sakit Angkatan Laut Dr. Ramelan, Jl. Gadung No.1, Jagir, Wonokromo, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60244

⁴ Instalasi Farmasi, Rumah Sakit *Port Health Center*, Jl. Prapat Kurung Selatan no 1 Tanjung Perak, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60165

⁵ Departemen Farmasi Komunitas, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Jl. Dharmawangsa No.4-6, Airlangga, Gubeng, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60286

*email korespondensi: yunita-n@ff.unair.ac.id

Received 24 March 2021, Accepted 22 April 2021, Published 15 July 2021

Abstrak: Permasalahan kurangnya pelaporan ADRs sudah berjalan lama diseluruh dunia. Partisipasi apoteker dalam pelaporan ADRs diharapkan dapat mengatasi permasalahan ini. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui faktor yang mempengaruhi praktik pelaporan ADRs oleh apoteker yang bekerja di beberapa rumah sakit di wilayah Surabaya. Penelitian ini adalah studi *cross sectional*. Responden pada penelitian ini adalah seluruh apoteker yang bekerja di tiga rumah sakit di Surabaya. Kriteria rumah sakit adalah yang pernah mengirimkan laporan ADRs kepada Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Indonesia. Sejumlah 49 apoteker berpartisipasi dalam penelitian ini. Instrumen pada penelitian ini menggunakan kuesioner dan daftar pertanyaan wawancara. Kuesioner yang digunakan sebelumnya telah melalui pengujian validitas dan reliabilitas. Kuesioner terdiri dari pernyataan-pernyataan meliputi demografi responden, pengetahuan, sikap, akses sarana, lingkungan (perilaku tenaga kesehatan lain), dan praktik yang berkaitan dengan pelaporan ADRs. Pada lembar wawancara berisi pernyataan-pernyataan meliputi ketersediaan sarana dan kebijakan/peraturan terkait pelaporan ADRs. Pada uji pengaruh menggunakan regresi linear berganda diperoleh variabel pengetahuan ($p=0,036$), dan variabel ketersediaan dan akses sarana pelaporan ADRs ($p=0,002$) berpengaruh signifikan terhadap praktik pelaporan ADRs. Diperoleh kesimpulan bahwa pengetahuan dan ketersediaan dan akses sarana merupakan faktor yang berpengaruh terhadap praktik pelaporan ADRs oleh apoteker di rumah sakit.

Kata kunci: Apoteker; Tenaga kesehatan; Adverse Drug Reactions (ADRs)

Abstract: **Factors affecting adverse drug reactions (ADRs) reporting by Pharmacist in several Hospitals in Surabaya.** The lack of adverse drug reactions (ADRs) reporting has been a problem all over the world. The participation of pharmacists in reporting ADRs is expected to be important in overcoming this problem. The purpose of this study was to determine factors that influence the practice of reporting ADRs by pharmacists who work in several hospitals in Surabaya. This study was a *cross sectional study*. Respondents in this study were all pharmacists working in three hospitals who contributed to ADRs reporting for National Agency of Drug and Food Control (NADFC) of Indonesia. A total of 49 pharmacists participated in this study. The instrument used were questionnaires and list of question for interviews. The questionnaire has been tested for its validity and reliability. The questionnaire consisted of

statements covering demographics data, knowledge, attitudes, access to facilities, environment (behavior of other health workers), and practices related to reporting ADRs. The interview sheet contained statements covering the availability of facilities and policies/regulations related to reporting ADRs. Knowledge ($p = 0.036$) as well as availability and access to means of reporting ADRs ($p = 0.002$) had a significant effect on the practice of reporting ADRs by using multiple linear regression. To conclude, knowledge and availability and access to facilities were factors that influence the practice of reporting ADRs by pharmacists in hospitals.

Keywords: Pharmacist; Healthcare professional; Adverse Drug Reactions (ADRs)

1. Pendahuluan

Farmakovigilans adalah ilmu dan aktivitas pendeteksian, penilaian, pemahaman, dan pencegahan *adverse effect* atau masalah lain yang terkait dengan penggunaan obat (Abdel-Latif & Abdel-Wahab, 2015; Jaiswal, 2014; Liu & Chen, 2015). Pelaksanaan farmakovigilans perlu melibatkan fasilitas kesehatan yang berkaitan dengan pengobatan seperti industri farmasi, apotek, dan rumah sakit. Pelaksanaan farmakovigilans di apotek dan rumah sakit diatur pada Peraturan Menteri Kesehatan no 72 dan 73 tahun 2016 dan bersifat *voluntary reporting* (Kemenkes RI, 2016a; Kemenkes RI, 2016b; BPOM, 2012). *Adverse drug reaction* merupakan salah satu masalah yang berkaitan dengan penggunaan obat dan termasuk kedalam cakupan farmakovigilans, sehingga pelaporan ADRs merupakan bagian dari kegiatan farmakovigilans. *Adverse drug reactions* (ADRs) didefinisikan sebagai sebuah respon obat yang berbahaya dan tidak diinginkan yang terjadi pada dosis normal yang digunakan oleh manusia untuk profilaksis, diagnosa, dan terapi penyakit atau untuk modifikasi fungsi fisiologi (Green *et al.*, 1999; BPOM, 2019; Voss *et al.*, 2017).

Orientasi pelayanan kefarmasian saat ini telah bergeser dari drug oriented menjadi patient oriented. Pelayanan yang semula hanya berfokus pada pengelolaan obat harus bergeser menjadi pelayanan yang menyeluruh, baik pengelolaan obat maupun pelayanan kepada masyarakat. Hal tersebut bertujuan untuk meningkatkan kualitas hidup masyarakat (Pratiwi *et al.*, 2020). Apoteker memiliki peran yang penting dalam mendeteksi dan melaporkan ADRs. Peran apoteker dalam pelaporan ADRs di tiap negara sangatlah berbeda. Sebagai contoh mayoritas negara, termasuk Indonesia, apoteker dapat melakukan pelaporan secara independen. Hal berbeda ditemukan di beberapa negara Nordik seperti Denmark dimana apoteker belum memiliki kewajiban untuk melakukan pelaporan ADRs, dimana kewajiban pelaporan hanya dibebankan pada dokter dan dokter gigi (Vaismoradi *et al.*, 2019). Permasalahan kurangnya pelaporan sudah berjalan lama diseluruh dunia, Di Norwegia terjadi peningkatan pelaporan ADRs karena adanya perubahan regulasi yang telah mewajibkan industri farmasi dalam melakukan pelaporan. Namun pelaporan spontan yang mengandalkan motivasi individu dari staf tenaga kesehatan secara signifikan masih dalam tingkatan yang rendah (Vaismoradi *et al.*, 2019). Oleh sebab itu untuk meningkatkan jumlah pelaporan ADRs partisipasi apoteker dalam

skema pelaporan ADRs diharapkan dapat menjadi alat yang penting dalam mengatasi masalah kurangnya pelaporan ADRs. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui faktor yang mempengaruhi praktik pelaporan ADRs oleh apoteker yang bekerja di beberapa rumah sakit di Surabaya.

2. Bahan dan Metode

Penelitian dilakukan dengan metode *cross sectional study*. Responden dalam penelitian ini melibatkan seluruh apoteker yang bekerja di tiga rumah sakit. Rumah sakit dipilih dari daftar rumah sakit yang berkontribusi dalam pelaporan ADRs kepada Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Indonesia yang berada di wilayah kota Surabaya. Penelitian ini juga telah mendapatkan persetujuan etik dari RSUD Dr. Soetomo Surabaya dengan nomor sertifikat **0667/KEPK/Ix/2018**. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah apoteker yang melakukan pelayanan resep dan pelayanan klinik. Terdapat 49 apoteker yang menjadi responden dalam penelitian ini. Penelitian dilakukan selama empat bulan dari Desember 2018-Maret 2019. Pembagian kuesioner dilakukan secara langsung ke masing-masing responden. Selain menggunakan kuesioner, pengambilan data juga dilakukan dengan metode wawancara.

Pernyataan dalam kuesioner terdiri dari beberapa bagian. Bagian yang pertama adalah demografi responden meliputi usia, profesi, pengalaman praktik, dan pendidikan terakhir. Pada bagian kedua berisi pernyataan yang menggali pengetahuan responden terkait pelaporan ADRs. Pada bagian ketiga berisi pernyataan tentang sikap responden terkait pelaporan ADRs. Bagian keempat berisi pernyataan terkait ketersediaan dan keterjangkauan akses sarana, pada bagian ini pengumpulan data juga dilakukan dengan metode wawancara. Pada bagian kelima berisi pernyataan responden terkait pelaporan ADRs yang dilakukan di lingkungan kerja masing-masing responden. Pada bagian terakhir berisi pernyataan mengenai praktik yang telah dilakukan yang terkait dengan pelaporan ADRs. Klasifikasi variabel dalam penelitian ini dibagi dalam tiga faktor sesuai dengan teori perilaku Lawrence Green, dimana Green menyatakan bahwa perilaku suatu individu dipengaruhi oleh tiga faktor yaitu *predisposing factor* yang terdiri dari pengetahuan dan sikap, *enabling factor* yang terdiri dari ketersediaan dan akses sarana, dan *reinforcing factor* yang terdiri dari lingkungan dan kebijakan/peraturan (Glanz *et al.*, 2008).

Proses scoring kuesioner yang berisi pernyataan *favorable* setiap jawaban benar akan diberikan nilai satu (1) sedangkan untuk kuesioner yang berisi pernyataan *unfavorable* jawaban benar akan diberikan nilai nol (0). Pada pernyataan dengan jawaban menggunakan skala Likert setiap pernyataan *favorable* akan diberikan skor masing-masing untuk jawaban “sangat tidak setuju: 1; tidak setuju: 2; setuju: 3; sangat setuju: 4” sedangkan pada pernyataan *unfavorable* akan diberikan skor masing-masing “sangat tidak setuju: 4; tidak setuju: 3; setuju: 2; sangat

setuju: 1”.

Proses validasi kuesioner dilakukan sebelum kuesioner dibagikan. Validasi ini terdiri dari beberapa tahap. Tahap yang pertama dilakukan *expert review*, pada tahap ini kuesioner di *review* oleh dua orang ahli dari dosen Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Setelah dilakukan penyesuaian terhadap masukan yang diperoleh validasi dilanjutkan ketahap yang kedua. Pada tahap ini dilakukan *Focus Group Discussion* dan mengundang empat orang ahli. Para ahli terdiri dari dua orang dari dosen Fakultas Farmasi Universitas Airlangga dan dua orang praktisi apoteker dari Rumah Sakit Universitas Airlangga. Pada tahap ini juga diperoleh beberapa masukan untuk perbaikan kuesioner. Setelah dilakukan perbaikan berdasarkan masukan yang diterima, proses validasi dilanjutkan ketahap ketiga. Pada tahap ini dilakukan pengujian kuesioner yang terdiri dari 43 responden yang memiliki kriteria yang sama dengan responden penelitian. Responden yang digunakan dalam uji validasi ini merupakan apoteker yang seluruhnya bekerja pada rumah sakit pemerintah maupun swasta. Pada tahap ini dilakukan uji validitas dan reliabilitas terhadap 40 item pertanyaan. Pada uji korelasi tiap item-item pernyataan diperoleh enam item pernyataan yang tidak valid ($r_{hitung} < 0,300$) sehingga dilakukan eliminasi pada keenam item tersebut sehingga total pernyataan yang digunakan dalam pengumpulan data berjumlah 34 pernyataan. Penentuan reliabilitas pada penelitian ini dilakukan dengan melihat nilai *alfa cronbach*. Kuesioner dikatakan reliabel jika nilai *alfa cronbach* $> 0,6$ (Prihapsara & Velayanti, 2017). Dari hasil uji reliabilitas diperoleh nilai *alfa cronbach* sebesar 0,895 yang mengindikasikan bahwa kuesioner yang digunakan reliabel. Analisa data yang digunakan pada penelitian ini adalah regresi linear berganda untuk menganalisis pengaruh variabel dependen (variabel pengetahuan, sikap, ketersediaan dan aksesibilitas sarana, lingkungan, peraturan/kebijakan) terhadap variabel independen (variabel praktik). Pada penelitian ini juga dilakukan uji korelasi *Pearson* untuk mengetahui hubungan antar masing-masing variabel. Dua metode analisa data statistik yang digunakan dalam penelitian ini memiliki fungsi yang berbeda, analisa regresi berganda digunakan dengan tujuan untuk mengetahui apakah variabel bebas mampu memprediksi variabel terikat, sedangkan uji korelasi *Pearson* digunakan untuk mengetahui keterkaitan dan ukuran pengaruh dari variabel bebas terhadap variabel terikat (Barton & Peat, 2014).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Sebaran responden berdasarkan rumah sakit

Responden pengisi kuesioner secara lengkap terdapat 49 orang. Responden terbagi menjadi 11 responden pada Rumah Sakit A, 27 responden pada Rumah Sakit B, dan 11 responden pada Rumah Sakit C. Terdapat perbedaan tipe dari masing-masing rumah sakit dalam penelitian ini. Semakin tinggi tipe sebuah rumah sakit makin banyak pula jumlah tenaga

kesehatan yang diperlukan termasuk apoteker.

Tabel 1. Karakteristik responden apoteker di beberapa rumah sakit wilayah kota Surabaya.

Karakteristik Responden	Apoteker n (%)
Jenis Kelamin :	
- Laki-laki	7(14,3)
- Perempuan	42(85,7)
- Missing	0
Pendidikan Terakhir	
- D3	0
- S1	0
- Pend.Profesi	22(44,9)
- Pend.Spesialis	0
- S2	27(55,1)
- S3	0
- Missing	0
Usia	
- 17-25	6(12,2)
- 26-35	22(44,9)
- 36-45	11(22,4)
- 46-55	8(16,3)
- 56-65	1(2,1)
- Missing	1(2,1)
Pengalaman	
- 0-5	10(26,3)
- 6-10	12(31,6)
- >10	15(39,5)
- Missing	1(2,6)

Mayoritas responden pada penelitian ini berjenis kelamin perempuan 42 (85,7%) seperti yang tercantum pada Tabel 1. Hasil ini sesuai dengan data profil kesehatan di Surabaya yang menyatakan mayoritas apoteker berjenis kelamin perempuan (Dinas Kesehatan, 2016). Pada kategori pendidikan terakhir mayoritas responden berpendidikan terakhir S2 sebesar 27 (55,1%). Pada kategori usia rentang usia mayoritas responden adalah 26-35 tahun sebesar 22 (45,8%). Hasil ini sesuai dengan sebaran kependudukan di Jawa Timur dimana mayoritas usia ada pada rentang 26-59 (Dewi *et al.*, 2013). Dari segi pengalaman praktik mayoritas responden memiliki pengalaman diatas 10 tahun 15(39,5%) (Tabel 1). Data karakteristik responden dalam penelitian ini tidak dilakukan uji pengaruh terhadap variabel. Data karakteristik responden hanya digunakan untuk menjelaskan profil dari responden yang digunakan dalam penelitian.

3.2 Variabel pengetahuan responden terhadap praktik pelaporan ADRs

Mayoritas responden menjawab dengan benar tiap item pernyataan yang ada pada variabel pengetahuan (Tabel 2). Total skor yang ditampilkan pada Tabel 8 tampak bahwa kategori pengetahuan apoteker terkait pelaporan ADRs dinilai cukup baik. Berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan di Indonesia dan Arab Saudi, dimana pengetahuan tenaga kesehatan termasuk apoteker yang bekerja di rumah sakit dinilai masih rendah (Wangge & Akbar, 2016; Abdel-Latif & Abdel-Wahab, 2015). Walaupun secara umum tingkat

pengetahuan dinilai cukup baik, item pernyataan dengan persentase jawaban benar yang terkecil adalah item pernyataan yang berkaitan dengan cara pelaporan ADRs yang baik. Pada item ini hanya 23 (46,9%) responden yang memiliki jawaban yang benar. Hasil ini menggambarkan perlunya dilakukan edukasi kepada seluruh tenaga kesehatan khususnya apoteker untuk meningkatkan kualitas pelaporan apoteker terkait ADRs.

Tabel 2. Pengetahuan apoteker di tiga rumah sakit di Surabaya terkait pelaporan ADRs.

Variabel	Jawaban Benar n (%)
	Apoteker (n = 49)
Pengetahuan :	
Tujuan pelaporan	35 (71,4)
Jenis obat yang dilaporkan	49 (100)
Cara pelaporan yang baik	23 (46,9)
Kebijakan pelaporan	47 (95,9)
Keamanan obat	48 (98,0)
Program pelaporan	49 (100)
Penanggung jawab pelaporan	43 (87,8)
Form Pelaporan	35 71,4)

3.3 Variabel Sikap responden terhadap pelaporan ADRs

Mayoritas responden memiliki sikap yang positif terhadap pelaporan ADRs (Tabel 3). Sikap positif dinilai dari jawaban responden pada masing-masing item pernyataan. Pada pernyataan yang *favorable* responden dikatakan memiliki sikap positif apabila memberikan jawaban setuju atau sangat tidak setuju. Pada pernyataan *unfavorable* responden dikatakan memiliki sikap yang positif jika memberikan jawaban tidak setuju atau sangat tidak setuju. Seluruh responden memberikan respon yang positif 10 (20,4%) setuju, dan 39 (79,6%) sangat setuju bahwa pelaporan ADRs perlu dilakukan. Pada pernyataan terkait pelaporan ADRs adalah tugas tenaga kesehatan mayoritas responden memiliki sikap yang positif 22 (45,8%) setuju, 23 (47,9%) sangat setuju. Hasil ini menggambarkan bahwa secara umum responden menerima secara positif program pelaporan ADRs yang dilakukan oleh pemerintah. Pada penelitian yang dilakukan di Afrika Selatan, apoteker memiliki sikap yang baik terhadap farmakovigilans (Joubert & Naidoo, 2016).

3.4 Variabel ketersediaan dan akses sarana pelaporan ADRs

Mayoritas responden berpendapat bahwa akses sarana pelaporan mudah diperoleh baik melalui *online* maupun manual menggunakan form kuning (Tabel 4). Segi ketersediaan sarana dan prasarana pelaporan sebagian besar telah tersedia di masing-masing rumah sakit. Di Indonesia sendiri pelaporan ADRs untuk tenaga kesehatan dapat dilakukan dengan dua cara. Pertama dapat melaporkan secara langsung dengan menggunakan form kuning dan yang kedua dapat melaporkan secara online dengan melalui website e-meso.pom.go.id (BPOM, 2019).

Pelaporan secara *online* mengharuskan tenaga kesehatan terlebih dahulu melakukan registrasi dan verifikasi melalui *website* e-meso.pom.go.id. Di rumah sakit sendiri telah tersedia farmakovigilans center dan berada didalam ruang lingkup kerja dari komite farmasi dan terapi. Pelatihan pelaporan ADRs pada internal rumah sakit sendiri belum sepenuhnya dilakukan di rumah sakit. Namun BPOM selaku badan yang bertanggung jawab dalam pelaporan ADRs telah bekerja sama dengan rumah sakit untuk melakukan pelatihan ADRs yang diikuti oleh perwakilan dari masing-masing rumah sakit.

Tabel 3. Sikap apoteker di tiga rumah sakit di Surabaya terkait pelaporan ADRs. Keterangan: STS (Sangat Tidak Setuju), TS (Tidak Setuju), S (Setuju), SS (Sangat Setuju).

Variabel	Responden n (%)			
	Apoteker			
Sikap	STS	TS	S	SS
Pelaporan ADRs perlu dilakukan	0(0,0)	0(0)	10(20,4)	39(79,6)
Pelaporan menjamin keamanan penggunaan obat	0(0,0)	0(0,0)	15(30,6)	34(69,4)
Pelaporan memberikan informasi keamanan obat	0(0,0)	2(4,1)	19(38,8)	28(57,1)
Pelaporan mencegah ADRs terjadi pada pasien lain	0(0,0)	6(12,2)	21(42,9)	22(44,9)
Pelaporan dilakukan pada obat baru	22(44,9)	24(49,0)	1(2,0)	2(4,1)
Pelaporan ADRs adalah tugas tenaga kesehatan	0(0,0)	3(6,2)	22(45,8)	23(47,9)
Perlu peraturan untuk peningkatan pelaporan ADRs	0(0,0)	1(2,0)	19(38,8)	29(59,2)
Perlu peraturan untuk meningkatkan peran tenaga kesehatan	0(0,0)	0(0,0)	22(44,9)	27(55,1)
Pelaporan menjamin keamanan obat yang beredar	0(0,0)	2(4,1)	19(38,8)	28(57,1)
Pengujian klinik menjamin keamanan obat	28(57,1)	17(34,7)	2(4,1)	2(4,1)
Perlu lembaga yang mengatur pelaporan ADRs	0(0,0)	0(0,0)	23(46,9)	26(53,1)
Pelaporan online lebih mudah daripada manual	0(0,0)	2(4,1)	18(36,7)	29(59,2)

Tabel 4. Ketersediaan dan akses sarana pelaporan di tiga rumah sakit di Surabaya terkait pelaporan ADRs.

Variabel	Jawaban responden
	Apoteker (n=49)
	Ya
Akses sarana/prasarana pelaporan:	
Website pelaporan mudah di akses	28(57,1)
Form pelaporan mudah diperoleh	36(73,5)
Ketersediaan sarana/prasarana pelaporan:	
Ketersediaan program pelaporan	49(100,0)
Adanya pelatihan terkait pelaporan	38(77,6)
Ketersediaan Farmakovigilans center	49(100,0)
Ketersediaan form pelaporan	38(77,6)

3.5 Variabel lingkungan (perilaku tenaga kesehatan lain) dan variabel kebijakan terkait pelaporan ADRs

Item pertanyaan terkait pelaporan ADRs oleh tenaga kesehatan lain baik itu dari perawat atau dokter mayoritas responden (Tabel 5) menyatakan bahwa ada pelaporan ADRs yang dilakukan oleh tenaga kesehatan diluar profesi apoteker. Pada item pernyataan terkait pelaporan oleh rekan sejawat dalam hal ini adalah rekan sejawat sesama profesi apoteker, mayoritas responden menyatakan bahwa adanya pelaporan ADRs yang dilakukan oleh rekan sesama apoteker. Pada item pernyataan terkait ajakan dari rekan sejawat untuk melakukan pelaporan ADRs mayoritas responden (>90%) berpendapat bahwa ada ajakan dari rekan sejawat dalam melakukan pelaporan ADRs. Pada pernyataan tentang ada tidaknya kolaborasi tenaga kesehatan terkait pelaporan ADRs diperoleh 83,7% responden berpendapat bahwa ada kolaborasi antar tenaga kesehatan dalam melakukan pelaporan ADRs (Tabel 5). Pada item pernyataan terkait himbuan dan *feedback* dari BPOM 69,4% dan 65,8% responden berpendapat bahwa ada himbuan dari rumah sakit dan juga ada *feedback* dari BPOM yang berkaitan dengan pelaporan ADRs (Tabel 5). Di Indonesia pelaporan ADRs dapat dilakukan oleh seluruh tenaga kesehatan (BPOM, 2019). Selain itu, BPOM selaku penanggung jawab program pelaporan di Indonesia memberikan *feedback* kepada rumah sakit yang dikirimkan melalui *e-mail* rumah sakit yang digunakan pada saat registrasi. *Feedback* yang berikan berupa buletin terkait farmakovigilans, dan juga surat edaran temuan signal yang telah dideteksi oleh WHO yang bekerja sama dengan *Uppsala monitoring center* (UMC).

Variabel kebijakan dilakukan dengan pengambilan data melalui wawancara dan diperoleh hasil bahwa pemerintah maupun rumah sakit telah memiliki kebijakan/peraturan terkait pelaporan ADRs. Di Indonesia kebijakan/peraturan terkait pelaporan ADRs dikeluarkan oleh BPOM dan juga Kementerian Kesehatan. Berdasarkan hasil wawancara diperoleh pemerintah melalui BPOM juga telah melakukan sosialisasi terkait kebijakan/peraturan tersebut (Tabel 5). Sosialisasi oleh BPOM dilakukan dalam bentuk seminar/*workshop* dengan mengundang perwakilan dari rumah sakit. BPOM juga melakukan *safety communication* yang berisi informasi terkait keamanan obat yang dikirim melalui email rumah sakit. Pada item pertanyaan terkait sosialisasi kebijakan dari rumah sakit diperoleh hasil 77,6% responden (Tabel 5) menyatakan rumah sakit telah melakukan sosialisasi kebijakan pelaporan ADRs. Sosialisasi terkait kebijakan dan tatacara pelaporan dilakukan dalam bentuk pelatihan dan seminar terkait keamanan pasien. Tiap rumah sakit juga telah memiliki pedoman dalam bentuk standar operasional terkait pelaporan ADRs. Pada item pertanyaan terkait insentif pemerintah belum menyediakan *reward* dan sanksi yang berkaitan dengan pelaporan ADRs. *Reward* yang berkaitan dengan monitoring efek samping obat diperoleh dari Ikatan Apoteker

Indonesia (IAI) selaku organisasi apoteker. *Reward* diberikan dalam bentuk kredit poin untuk apoteker yang melakukan monitoring efek samping obat yang dapat digunakan pada saat melakukan resertifikasi (Komite Farmasi Nasional, 2014).

Tabel 5. Variabel lingkungan dan kebijakan di tiga rumah sakit di Surabaya terkait pelaporan ADRs.

Variabel	Jawaban Responden
	Apoteker (n=49)
	Ya
Lingkungan:	
Pelaporan oleh tenaga kesehatan lain	48(97,4)
Pelaporan oleh rekan sejawat	47(97,4)
Ajakan dari rekan sejawat untuk melaporkan ADRs	45(91,8)
Kolaborasi antar tenaga kesehatan	41(83,7)
Himbauan dari rumah sakit terkait pelaporan ADRs	34(69,4)
Feedback dari BPOM	33(65,8)
Kebijakan dan insentif:	
Kebijakan/peraturan/pedoman dari pemerintah	49(100)
Kebijakan/peraturan/pedoman dari rumah sakit	49(100)
Sosialisasi kebijakan/peraturan/pedoman dari pemerintah	49(100)
Sosialisasi kebijakan/peraturan/pedoman dari rumah sakit	38(77,6)
Tidak ada reward dari pemerintah	49(100)
Tidak ada sanksi yang diperoleh jika tidak melaporkan	49(100)

3.6 Variabel praktik dan hambatan dalam melakukan pelaporan ADRs

Mayoritas responden 45 (91,8%) pernah melakukan pengamatan terhadap kasus ADRs yang terjadi walaupun hanya 21 (42,9%) yang pernah melaporkan ADRs yang mereka temui dalam setahun terakhir (Tabel 6). Hasil ini mungkin disebabkan karena adanya keterbatasan waktu oleh apoteker, efek samping yang diamati merupakan efek samping yang ringan/umum terjadi dan adanya ketidakyakinkan efek samping disebabkan oleh obat. Secara keseluruhan praktik pelaporan ADRs tergolong cukup baik yaitu 34 (69,4%) (Tabel 8). Hasil ini berbeda diperoleh pada beberapa penelitian yang dilakukan di Indonesia, Uni Emirat Arab, dan Kuwait dimana tingkat pelaporan ADRs oleh apoteker masih tergolong rendah (Wangge & Akbar, 2016; Said & Hussain, 2017; Alsaleh *et al.*, 2017).

Responden sejumlah 16 orang (32,7%) menyatakan terbatasnya waktu menjadi hambatan dalam melakukan praktik pelaporan ADRs (Tabel 7). Hasil yang sama diperoleh pada penelitian sebelumnya yang menyatakan kurangnya waktu dari apoteker merupakan salah satu hambatan dalam melaporkan ADRs (Elkalmi *et al.*, 2011). Pengumpulan data hambatan pada Tabel 7 ini diperoleh menggunakan kuesioner. Pada Tabel 7 terkait hambatan dalam melakukan pelaporan ADR, responden juga diminta menuliskan sendiri hambatan yang dirasakan jika hambatan yang didapatkan oleh responden tidak termasuk dalam item pernyataan. Pada data hambatan (Tabel

7) hanya 27 (53,1%) responden yang memiliki hambatan dalam proses pelaporan sedangkan sisanya dianggap tidak memiliki hambatan dalam melakukan pelaporan ADRs.

Tabel 6. Praktik apoteker di tiga rumah sakit di Surabaya terkait pelaporan ADRs.

Variabel	Apoteker (n=49)
Praktik	Ya
Pengamatan terhadap kasus ADRs	45(91,8)
Penggalian informasi terkait ADRs ke pasien/ keluarga pasien	42(85,7)
Pencatatan kejadian ADRs	42(86,8)
Membagikan informasi kejadian ADRs ke rumah sakit	38(77,6)
Membagikan informasi kejadian ADRs ke rekan sejawat	40(81,6)
Melaporkan ADRs dalam setahun terakhir	21(42,9)

Tabel 7. Hambatan apoteker di tiga rumah sakit di Surabaya dalam melakukan praktik pelaporan ADRs.

Hambatan	Apoteker n (%)
Keterbatasan waktu	16 (32,7)
Tidak tahu bagaimana melaporkan ADRs	1 (2,0)
Tidak tahu dimana dan kemana melaporkan	0 (0)
Form sulit digunakan	1 (2,0)
Tidak ada insentif	1 (2,0)
Efek samping ringan/umum terjadi	4 (8,2)
Tidak yakin disebabkan obat	4 (8,2)

Tabel 8. Total skor apoteker pada variabel pengetahuan, sikap, ketersediaan dan akses sarana, lingkungan (Perilaku tenaga kesehatan lain), kebijakan, praktik yang terkait pelaporan ADRs di tiga rumah sakit di Surabaya. Keterangan: Pengetahuan (Baik: $x > 7,05$; Cukup: $4,15 \leq x \leq 7,05$; Rendah: $x < 4,15$); Sikap (Baik: $x > 44,02$; Cukup: $34,86 \leq x \leq 44,02$; Kurang: $x < 34,86$); Ketersediaan dan akses sarana (Baik: $x > 5,42$; Cukup: $2,62 \leq x \leq 5,42$; Kurang: $x < 2,62$); Lingkungan (Baik: $x > 5,18$; Cukup: $1,32 < x < 5,18$; Kurang: $x < 1,32$); Kebijakan/Peraturan (Baik: $x > 4,1$; Cukup: $3,1 \leq x \leq 4,1$; Kurang: $x < 3,1$); Praktik (Baik: 8-10; Cukup: 5-7; Kurang: 0-4).

Faktor	Variabel	Kategori		
		Baik	Cukup	Kurang
Variabel Independen				
<i>Predisposing factor</i>	Pengetahuan	11(22,5)	37(75,5)	1(2,0)
	Sikap	18(36,7)	31(63,3)	0(0)
<i>Enabling factor</i>	Ketersediaan dan keterjangkauan sarana	19(34,2)	27(55,1)	3(7,9)
<i>Reinforcing factor</i>	Lingkungan	38(77,6)	9(18,4)	2(4,1)
	Kebijakan/peraturan	0(0,0)	38(77,6)	11(28,9)
Variabel Dependen				
	Praktik	0(0)	34(69,4)	28(29,8)

Gambar pengkategorian responden pada masing-masing variabel ditunjukkan Tabel 8. Kategori pada masing-masing variabel dibedakan menjadi tiga jenis yaitu baik, cukup, dan kurang. Pengkategorian ini sesuai dengan skor jawaban responden pada kuesioner yang dibagikan. Responden dikategorikan **baik** jika skor pada masing-masing variabel lebih tinggi

atau sama dengan nilai $\text{mean} + \text{SD}$ (baik : Skor responden $\geq \text{mean} + \text{SD}$), dikategorikan **cukup** bila skor responden pada masing-masing variable lebih besar dari nilai $\text{mean} - \text{SD}$ dan lebih kecil dari nilai $\text{mean} + \text{SD}$ ($\text{mean} - \text{SD} \leq \text{skor responden} \leq \text{mean} + \text{SD}$), dan dikategorikan **kurang** apabila skor responden lebih kecil atau sama dengan $\text{mean} - \text{SD}$ ($\text{skor responden} \leq \text{mean} - \text{SD}$).

3.7 Pengaruh dan hubungan variabel pengetahuan, sikap, ketersediaan dan akses sarana, lingkungan, dan kebijakan terhadap praktik pelaporan ADRs

Hasil uji bivariat menggunakan uji korelasi *pearson* menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara variabel sikap terhadap praktik pelaporan ADRs dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,320 (Tabel 9). Sebuah sikap yang positif terhadap sebuah inovasi akan meningkatkan kecenderungan individu melakukan sebuah praktik atau perilaku. Seorang individu bahkan tidak akan melakukan sebuah praktik/perilaku meskipun memiliki pengetahuan yang baik jika memiliki sikap yang negatif terhadap inovasi (Thomas & Zachariah, 2017).

Variabel lain yang memiliki hubungan terhadap praktik pelaporan adalah ketersediaan dan akses sarana dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,497. Hasil ini dapat disebabkan oleh ketersediaan dan akses form pelaporan sudah cukup baik. Selain itu di Indonesia metode pelaporan ADRs dapat dilakukan secara *online* dan juga dapat dilakukan secara manual menggunakan form kuning yang bertujuan untuk meningkatkan jumlah pelaporan ADRs oleh apoteker (Kelly *et al.*, 2010).

Hasil uji regresi linear berganda diperoleh bahwa secara simultan tidak ada pengaruh antara variabel independen dan variabel dependen, namun bila dijabarkan pada tiap-tiap variabel diperoleh pengetahuan dan ketersediaan dan akses sarana pelaporan adalah variabel yang berpengaruh terhadap praktik pelaporan ADRs oleh apoteker dengan nilai $p = 0,036$ dan $0,002$ (Tabel 9). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan di Arab Saudi, dimana praktik pelaporan ADRs oleh apoteker dipengaruhi oleh tingkat pengetahuan terkait farmakovigilans (Suyagh *et al.*, 2015). Hasil ini juga diperkuat dengan teori Rogers yang menyatakan seorang individu yang memiliki pengetahuan/informasi dari sebuah inovasi akan dimotivasi untuk mereduksi ketidakpastian tentang kelebihan dan kekurangan dari inovasi (Rogers, 1983) yang dalam penelitian ini adalah perilaku pelaporan ADRs. Selain itu, dalam penelitian ini variabel ketersediaan dan akses sarana juga turut berpengaruh terhadap praktik pelaporan ADRs. Di Indonesia pelaporan ADRs dapat dilakukan pada rumah sakit yang telah melakukan registrasi dan telah diverifikasi untuk dapat melakukan pelaporan secara *online*.

Faktor yang tidak mempengaruhi praktik pelaporan ADRs ditunjukkan pada Tabel 9. Pada penelitian ini variabel sikap tidak berpengaruh terhadap praktik pelaporan ADRs dengan nilai $p > 0,05$. Pada penelitian yang lain diperoleh mayoritas apoteker memiliki sikap yang

positif namun memiliki angka pelaporan ADRs yang rendah (Suyagh *et al.*, 2015). Data ini menunjukkan hasil yang kontradiktif dimana diperoleh hubungan yang signifikan antara variabel sikap terhadap praktik pelaporan, namun tidak diperoleh pengaruh antar kedua variabel tersebut. Hasil seperti ini bisa terjadi, secara teori adanya hubungan yang signifikan antar variabel tidak berarti kedua variabel tersebut memiliki fungsi sebab-akibat (Barton & Peat, 2014). Pada penelitian ini sikap positif responden terhadap pelaporan ADRs akan berhubungan dengan kecenderungan mereka untuk melakukan pelaporan namun tidak berarti akan mempengaruhi perilaku responden untuk melakukan pelaporan. Rogers mengemukakan bahwa sikap yang positif tidak selalu secara langsung mempengaruhi keputusan individu mengadopsi sebuah inovasi (Rogers, 1983).

Tabel 9. Uji Pengaruh antara variabel pengetahuan, sikap, ketersediaan dan akses sarana, lingkungan, dan kebijakan terhadap praktik pelaporan ADRs. Keterangan : p (Nilai signifikansi berdasarkan uji regresi linear berganda), * (Ada pengaruh signifikan ($p < 0,05$)), ** (Ada hubungan signifikan), r (Nilai *pearson correlation*), - (Negatif melambangkan adanya pengaruh/hubungan negatif antar variable).

Variabel Dependen	Variabel Independen	Unstandardized Coefficient B	p	Adjusted R ²	R
Praktik	<i>Predisposing factor</i>				
	Pengetahuan	-0,588	0,036*		-0,234
	Sikap	0,077	0,248		0,320**
	<i>Enabling factor</i>				
	Ketersediaan dan akses sarana	1,198	0,002*	0,340	0,497**
	<i>Reinforcing factor</i>				
	Lingkungan	-0,276	0,225		-0,164
	Kebijakan dan Insentif	-1,253	0,218		0,265

Variabel lain yang tidak memiliki pengaruh terhadap praktik pelaporan ADRs adalah variabel lingkungan yang meliputi perilaku rekan sejawat, tenaga kesehatan lain, himbauan dan *feedback* dari BPOM. Walaupun mayoritas responden mengetahui bahwa ada rekan sejawat lain dan tenaga kesehatan lain yang melakukan pelaporan ADRs hal itu tidak mempengaruhi perilaku mereka terhadap pelaporan ADRs. Hasil ini dapat dipengaruhi oleh faktor seperti kurangnya waktu untuk melakukan praktik pelaporan ADRs (Tabel 8). Dari beberapa penelitian sebelumnya yang menyatakan alasan kurangnya pelaporan ADRs disebabkan karena kurangnya waktu untuk melakukan pelaporan ADRs (Elkalmi *et al.*, 2011; García & Figueras, 2011; Varallo *et al.*, 2014).

Variabel terakhir yang tidak memiliki pengaruh terhadap praktik pelaporan ADRs adalah variabel kebijakan. Di Indonesia sendiri pelaporan ADRs untuk tenaga kesehatan bersifat *voluntary* (Peraturan Kepala Badan POM Tentang Pedoman Monitoring Efek Samping Obat

Untuk Tenaga Kesehatan, 2012). Hal berbeda diberlakukan untuk industri farmasi dimana pelaporan ADRs untuk industri farmasi telah diwajibkan oleh BPOM. Walaupun pelaporan ADRs untuk tenaga kesehatan bersifat *voluntary* namun khusus apoteker monitoring efek samping obat merupakan bagian dari standar pelayanan kefarmasian di rumah sakit. Penelitian ini memiliki keterbatasan dalam jumlah responden. Responden pada penelitian ini adalah tenaga kesehatan yang bekerja pada rumah sakit yang menjadi kontributor BPOM untuk pelaporan ADRs sehingga belum sepenuhnya mewakili seluruh tenaga kesehatan. Berdasarkan keterbatasan penelitian diatas diharapkan adanya penelitian yang lebih lanjut dengan menggunakan responden dari berbagai rumah sakit pemerintah maupun swasta.

4. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian yang dilakukan yaitu bahwa variabel sikap dan variabel ketersediaan dan keterjangkauan sarana pelaporan yang berpengaruh terhadap praktik pelaporan ADRs oleh apoteker yang bekerja di beberapa rumah sakit di Surabaya. Oleh karena itu rumah sakit diharapkan untuk meningkatkan sikap/kesadaran apoteker akan pentingnya pelaporan ADRs selain itu perlu juga memperhatikan ketersediaan dan keterjangkauan sarana pelaporan seperti formulir pelaporan. Diperlukan penelitian lebih lanjut yang ditujukan untuk apoteker yang berpraktik di RS yang belum berkontribusi terhadap pelaporan ADRs dan di apotek untuk meningkatkan jumlah pelaporan ADRs oleh apoteker.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada seluruh apoteker yang telah terlibat dalam penelitian ini. Peneliti juga mengucapkan terima kasih kepada Dr. Windhu Purnomo, dr., M.S dari Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga atas saran statistik yang telah diberikan.

Deklarasi Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

Daftar Pustaka

- Abdel-Latif, M.M.M., and Abdel-Wahab, B.A. (2015). Knowledge and awareness of adverse drug reactions and pharmacovigilance practices among healthcare professionals in Al-Madinah Al-Munawwarah, Kingdom of Saudi Arabia. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23(2), pp. 154–161. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2014.07.005>
- Alsaleh, F.M., Alzaid, S.W., Abahussain, E.A., Bayoud, T., and Lemay, J. (2017). Knowledge, attitude and practices of pharmacovigilance and adverse drug reaction reporting among pharmacists working in secondary and tertiary governmental hospitals in Kuwait. *Saudi Pharmaceutical Journal*, pp. 0–9. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2016.12.004>
- Barton, B., and Peat, J. (2014). *Medical Statistics: A guide to SPSS, data analysis and critical appraisal* (2nd Edition). West Sussex: John Wiley and Sons Ltd.
- BPOM. (2012). *Peraturan Kepala Badan POM Tentang Pedoman Monitoring Efek Samping Obat Untuk Tenaga Kesehatan*. Jakarta, Badan Pengawas Obat dan Makanan.
- BPOM. (2019). *Panduan deteksi dan pelaporan efek samping obat untuk tenaga kesehatan*. Jakarta, Badan Pengawas Obat dan Makanan

- Dewi, C.A.K., Athiyah, U., Mufarrihah, and Nita, Y. (2013). Drug therapy problems pada pasien yang menerima resep polifarmasi (studi di Apotek Farmasi Airlangga Surabaya), *Jurnal Farmasi Komunitas*, 1(1), pp. 17–22.
- Dinas Kesehatan. (2016). *Profil kesehatan Jawa Timur*. Surabaya, Dinas Kesehatan.
- Elkalmi, R.M., Hassali, M.A., Ibrahim, M.I.M., Liau, S.Y., and Awaisu, A. (2011). A qualitative study exploring barriers and facilitators for reporting of adverse drug reactions (ADRs) among community pharmacists in Malaysia, pp. 71–78. <https://doi.org/10.1111/j.1759-8893.2011.00037.x>
- García, M.P., and Figueras, A. (2011). The lack of knowledge about the voluntary reporting system of adverse drug reactions as a major cause of underreporting: direct survey among health professionals. *Pharmacoepidemiology Drug Safety* (7), pp. 1295–1302. <https://doi.org/10.1002/pds>
- Green, C.F., Mottram, D.R., Rowe, P.H., and Brown, A.M. (1999). Adverse drug reaction monitoring by United Kingdom hospital pharmacy departments: impact of the introduction of “yellow card” reporting for pharmacists. *International Journal of Pharmacy Practice*. (5), pp. 238–246.
- Glanz, K., Rimer, B.K., and Visnawath, K. (2008). *Health behaviour and health education* (4th Edition). San Francisco: Jossey-Bass A Wiley imprin.
- Joubert, M. C., and Naidoo, P. (2016). Knowledge, perceptions and practices of pharmacovigilance amongst community and hospital pharmacists in a selected district of North West Province, South Africa. *Health SA Gesondheid*, 21, 238–244. <https://doi.org/10.1016/j.hsag.2016.04.005>
- Jaiswal, P. (2014). A Review on Adverse Drug Events to Create Awareness Pallavi. *Journal of Pharmacovigilance*, 2(3). <https://doi.org/10.4172/2329-6887.1000R-001>
- Kelly, M., Kaye, K.I., Davis, S.R., and Shenfield, G.M. (2010). Factors influencing adverse drug reaction reporting in new south wales teaching hospitals. *Journal of Pharmacy Practice and Research*, 34(1), pp. 32–35
- Kementrian Kersehatan Republik Indonesia. (2016a). *Standar Pelayanan Kefarmasian di Rumah Sakit*. Jakarta, Kementrian Kesehatan.
- Kementrian Kesehatan. (2016b). *Permenkes 73 Tahun 2016 Tentang Standar Pelayanan Kefarmasian di Apotek*. Jakarta, Kementrian Kesehatan.
- Komite Farmasi Nasional. (2014). *Pedoman re-sertifikasi apoteker dan penentuan nilai satuan kredit partisipasi (SKP)*. Jakarta, Komite Farmasi Nasional.
- Liu, X., and Chen, H. (2015). A research framework for pharmacovigilance in health social media: Identification and evaluation of patient adverse drug event reports. *Journal Of Biomedical Informatics*, 58, pp. 268–279. <https://doi.org/10.1016/j.jbi.2015.10.011>
- Pratiwi, H., Mustikaningtias, I., Widyartika, F. R., Setiawan, D., Nasrudin, K., and Julietta, L. (2020). Analisis Persepsi Masyarakat Terhadap Peran Apoteker Pada Layanan Kefarmasian Di Apotek Kecamatan Sokaraja, Baturraden, Sumbang, Dan Kedungbanteng. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 5(1), pp. 33–48. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v5i1.39273>
- Prihapsara, F., and Velayanti, R. (2017). The Influence of Attitude and Subjective Norm Towards The Purchase Intention as Potential Consumer of Mouthwash Product. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 2(01), pp. 06–17. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v2i01.5232>
- Rogers, E.M. (1983). *Diffusion of innovations*. New York, The Free Press. <https://doi.org/82-70998>
- Said, A.S.A., and Hussain, N. (2017). Adverse drug reaction reporting practices among united arab emirates pharmacists and prescribers. *Hospital Pharmacy*, 52(5), pp. 361–366. <https://doi.org/10.1177/0018578717715364>
- Suyagh, M., Farah, D., and Farha, R.A. (2015). Pharmacist’s knowledge, practice and attitudes toward pharmacovigilance and adverse drug reactions reporting process. *Saudi*

- Pharmaceutical Journal*, 23(2), pp. 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2014.07.001>
- Thomas, D., and Zachariah, S. (2017). Knowledge, Attitude, and Practice of Pharmacovigilance in Developing Countries. In *Social and Administrative Aspects of Pharmacy in Low-and Middle-Income Countries: Present Challenges and Future Solutions* (hal. 177–193). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811228-1.00011-X>
- Vaismoradi, M., Logan, P. A., Jordan, S., and Sletvold, H. (2019). Adverse Drug Reactions in Norway : A Systematic Review. *pharmacy*. 7, pp. 1-12. <https://doi.org/10.3390/pharmacy7030102>
- Varallo, F.R., Guimares, S.D.O.P., Abjaude, S.A.R S., and Mastrianni, P.D.C. (2014). Causes for the underreporting of adverse drug events by health professionals : a systematic review. *Rev Esc Enferm USP*, 48(4), pp. 739–747. <https://doi.org/10.1590/S0080-623420140000400023>
- Voss, E.A., Boyce, R.D., Ryan, P.B., Lei, J.V.D., Rijnbeek, P.R., and Schumie, M.J. (2017). Accuracy of an automated knowledge base for identifying drug adverse reactions. *Journal of Biomedical Informatics*, 66, pp. 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.jbi.2016.12.005>
- Wangge, G., and Akbar, W. (2016). Knowledge, attitudes and practice of pharmacovigilance among health care professionals in Indonesia. *Health Science Journal of Indonesia*, 7(1), pp. 59–63.



© 2021 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).



Isolasi Sinensetin dari Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus Blume miq.*) Varietas Putih

Fahrauk Faramayuda^{1,2*}, Soraya Riyanti², Adella Shindy Pratiwi², Totik Sri Mariani³, Elfahmi^{1,4} dan Sukrasno¹

¹Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung (ITB), Jl. Ganesha No 10, Bandung, Jawa Barat, Indonesia, 40132.

²Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani (UNJANI), Jl. Ters Jend Sudirman, Cimahi, Jawa Barat, Indonesia, 40532.

³School of Life Sciences and Technology, Institut Teknologi Bandung (ITB), Jl. Ganesha No 10, Bandung, Jawa Barat, Indonesia, 40132.

⁴Biosciences and Biotechnology Research Center, Institut Teknologi Bandung (ITB), Jl. Ganesha No 10, Bandung, Jawa Barat, Indonesia, 40132.

*email korespondensi: fahrauk.faramayuda@lecture.unjani.ac.id

Received 26 January 2021, Accepted 1 June 2021, Published 15 July 2021

Abstrak: Kumis kucing mengandung metabolit sekunder sinensetin yang termasuk ke dalam golongan senyawa flavonoid. Sinensetin berpotensi sebagai agen antivirus dan imunomodulator. Tujuan penelitian ini adalah standardisasi tanaman kumis kucing varietas putih dan upaya produksi senyawa sinensetin. Ekstraksi dilakukan dengan metoda maserasi. Tahap pemisahan lanjutan dilakukan dengan metoda ekstraksi cair-cair, kromatografi kolom dan kromatografi cair vakum. Hasil ekstraksi cair-cair terpilih tiga fraksi yaitu fraksi air, etil asetat dan n-heksana. Sebanyak 2,08 gram fraksi etil asetat dilanjutkan pada tahap pemisahan lanjutan menggunakan kromatografi cair vakum dengan fasa diam silika gel H60 dan fasa gerak n-heksana dan etil asetat. Hasil dari kromatografi cair vakum diperoleh sebanyak 11 subfraksi. Penggabungan dilakukan pada subfraksi 8-11 yang terdeteksi adanya senyawa sinensetin, selanjutnya terhadap subfraksi gabungan dilakukan pemisahan lanjutan dengan kromatografi kolom. Hasil pemisahan dengan kromatografi kolom diperoleh subfraksi sebanyak 142 vial. Pada subfraksi hasil kromatografi kolom nomor 91-114 terdeteksi adanya isolat sinensetin. Kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) gabungan subfraksi kromatografi kolom 91-114 (SFK) menunjukkan adanya senyawa sinensetin. Berdasarkan hasil pemeriksaan kemurnian dengan menggunakan KLT 2 dimensi dan analisis profil spektrum UV isolat diduga senyawa sinensetin.

Kata kunci: Kumis kucing; sinensetin; kromatografi cair vakum; kromatografi kolom; identifikasi senyawa aktif

Abstract: Isolation of sinensetin from cat's whiskers (*Orthosiphon aristatus Blume miq.*) white variety. Cat's whiskers contain a secondary metabolite sinensetin which belongs to the class of flavonoid compounds. Sinensetin has the potential as an antiviral and immunomodulatory agent. The purpose of this research was the standardization of white variety cat whiskers and the production of sinensetin compounds. Extraction was carried out by the maceration method using 96% ethanol as solvent. The further separation step was carried out by liquid-liquid extraction, vacuum liquid chromatography, and column chromatography. The results of the liquid-liquid extraction were selected from three fractions, namely water, ethyl acetate, and n-hexane fractions. A total 2.08 gram of ethyl acetate fraction was continued in a further separation step using vacuum liquid chromatography with silica gel H60 as a stationary phase and n-hexane and ethyl acetate as mobile phases. The results of vacuum liquid chromatography obtained as many as 11 subfractions. The amalgamation was carried out on subfractions 8-11 which detected the presence of sinensetin compounds, then

the combined subfractions were further separated by column chromatography. The results of column chromatography separation obtained subfraction of as many as 142 vials. In the subfraction of column chromatography results in numbers 91 – 114, sinensetin isolates were detected. Preparative thin-layer chromatography combined with column chromatography subfraction 91 -114 (SFK) showed the presence of sinensetin compounds. Based on the results of the purity examination using 2-dimensional TLC and analysis of the UV spectrum profile of the isolate, it was suspected that sinensetin was a compound.

Keywords: Cat's whiskers; sinensetin; extraction; fractionation; vacuum liquid chromatography; column chromatography; identification of active compounds

1. Pendahuluan

Kumis kucing adalah tanaman obat tradisional yang sudah banyak digunakan secara empiris di beberapa wilayah asia dan eropa. Hasil penelitian sudah banyak melaporkan aktivitas farmakologi dari kumis kucing, diantaranya adalah diuretik (Olah *et al.*, 2003; Arafat *et al.*, 2008; Adam *et al.*, 2009), analgesik dan antipiretik (M. Yam *et al.*, 2008), antihipertensi (Matsubara *et al.*, 1999), efek hepatoprotektif (M. Yam *et al.*, 2007; Maheswari *et al.*, 2008), pencegahan dan pengobatan kanker (Pauzi *et al.*, 2018; Halim *et al.*, 2017), antivirus (Ripim *et al.*, 2018).

Pada masa pandemi Covid-19 penemuan senyawa atau tanaman obat tradisional yang berpotensi sebagai antivirus dan imunomodulator terus dilakukan dan berdasarkan hasil penelitian senyawa yang terkandung dalam tanaman kumis kucing berpotensi sebagai inhibitor Covid-19 (Sarkar & Das ; 2020; Rowaiye *et al.*, 2020; Sekiou *et al.*, 2020; Adem *et al.*, 2020; Dahab *et al.*, 2020; Narkhede *et al.*, 2020; Sharma & Kaur, 2020; Faramayuda *et al.*, 2021), antiherpetik (Ikeda *et al.*, 2011; Medini *et al.*, 2016; Astani *et al.*, 2011; Astani & Schnitzler, 2014; Bourne *et al.*, 1999; Benencia & Courreges, 2000; Sharifi-Rad *et al.*, 2018), anti-human immunodeficiency virus (HIV) (Lin *et al.*, 1999; McDougall *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 2014; Mengoni *et al.*, 2002; Kashiwada *et al.*, 1998; Xu *et al.*, 1996), anti hepatitis (Haid *et al.*, 2012; Duan *et al.*, 2016; Kong *et al.*, 2013; Chang *et al.*, 2016) dan imunomodulator (Harun *et al.*, 2015; Woottisin *et al.*, 2011; Friedman, 2015; Kim *et al.*, 2008; Takano *et al.*, 2004; Sanbongi *et al.*, 2004; Youn *et al.*, 2003).

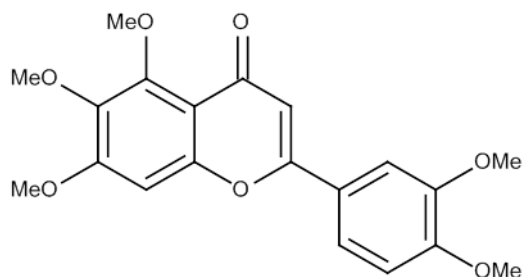
Uji klinis terhadap manusia dari tanaman kumis kucing telah dilaporkan dan menunjukkan hasil yang baik (Premgamone *et al.*, 2001; Adnyana *et al.*, 2013). Uji toksisitas yang menjamin tingkat keamanan dari kumis kucing telah dilaporkan, diantaranya studi toksisitas ekstrak air terstandar kumis kucing pada dosis 250, 500, 1000 dan 2000 mg/kg BB/hari, selama pemberian 60 hari pada tikus jantan tidak menunjukkan tanda-tanda toksisitas (Muhammad *et al.*, 2013). Ekstrak etanol 50% terstandar kumis kucing dengan dosis 5000 mg/kg diberikan secara oral kepada tikus betina *Sprague Dawley* (SD) tidak menunjukkan adanya kelainan pada organ dan gambaran histopatologi organ. Hasil ini diikuti oleh toksisitas

subkronik dimana selama 28 hari pemberian ekstrak tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol (E. Mohamed *et al.*, 2010). Aktivitas farmakologi ini sangat tergantung pada kualitas bahan tanaman yang diujikan.

Standardisasi pada bahan baku tanaman perlu dilakukan untuk menjaga konsistensi kualitas produk obat tradisional yang dihasilkan. Parameter standardisasi simplisia meliputi parameter spesifik dan non spesifik. Parameter non spesifik meliputi penetapan susut pengeringan, penentuan kadar abu total dan penetapan kadar abu yang tidak larut asam, sedangkan penentuan kadar sari larut air, penentuan kadar sari larut etanol dan analisis kuantitatif senyawa marker merupakan parameter spesifik (Anonim, 2017; Maulana *et al.*, 2020; Savitri *et al.*, 2020).

Senyawa utama atau marker dalam kumis kucing adalah asam rosmarinat, danshensu, eupatorin dan sinensetin (Guo *et al.*, 2019). Senyawa sinensetin termasuk ke dalam golongan senyawa flavon polimetoksi (Gambar 1). Senyawa flavon polimetoksi memiliki beberapa aktivitas dan merupakan bagian dari mekanisme pertahanan kimia tanaman (Berim & Gang, 2016). Tanaman kumis kucing yang tumbuh di Indonesia ada tiga varietas yaitu kumis kucing berbunga putih, putih-ungu dan ungu (Febjislami *et al.*, 2019). Perbedaan yang paling mendasar ketiga varietas tersebut adalah dari morfologi bunga (Keng & Siong, 2006). Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa sinensetin terdapat pada tiga varietas tersebut (Febjislami, 2017). Faktor yang berpengaruh pada kadar sinensetin dalam tanaman kumis kucing adalah usia, tingkat kematangan dan lokasi tumbuh. Berdasarkan usia dan tingkat kematangan yang sama, kadar sinensetin beberapa genotype kumis kucing varietas putih lebih tinggi dibandingkan varietas lainnya (Batubara *et al.*, 2020). Penelitian identifikasi dan isolasi senyawa marker sinensetin pada tanaman kumis kucing varietas putih belum banyak dilaporkan.

Teknik isolasi menggunakan kromatografi kolom sephadex LH-20 dan KLT preparatif terhadap 100 mg ekstrak etil asetat *C. Reticulata* menghasilkan 23,4 mg sinensetin (Nakanishi *et al.*, 2019). Simplisia Kulit *C. Reticulata* sebanyak 500 g menghasilkan 38,8 mg sinensetin dengan menggunakan kromatografi kolom (Nagase *et al.*, 2005). Isolasi sinensetin dari *Citrus reticulata* dengan menggunakan *high-speed counter current chromatography* (HSCCC) dan kromatografi cair kinerja tinggi preparatif menghasilkan 27,7 mg sinensetin (Du & Chen, 2010). Teknik isolasi senyawa marker sinensetin yang lebih sederhana menggunakan kromatografi cair vakum perlu dilakukan sebagai alternatif metode isolasi. Sehingga tujuan penelitian ini yaitu merancang teknik isolasi dengan metoda kromatografi cair vakum.



Gambar 1. Struktur senyawa sinensetin pada tanaman kumis kucing (*Orthosiphon aristatus blume miq.*).

2. Bahan dan Metode

2.1 Bahan kimia dan reagen

Sinensetin (Sigma St. Louis, MO, USA), etanol (Merck Jakarta, Indonesia), etil asetat (Merck Jakarta, Indonesia), n-heksana (Merck Jakarta, Indonesia), Pelat silika gel 60 F254 (Merck Jakarta, Indonesia), silika gel 60 F254, silika gel H60, kloroform, kloralhidrat, asam borat, asam sitrat dan aquadest.

2.2 Peralatan

Alat gelas yang umum digunakan di laboratorium, maserator, timbangan analitik (Shimadzu, Jepang), oven (Memert, Jerman), dan rotary evaporator (Heidolp, Jerman), kromatografi cair vakum (KCV) dan kromatografi kolom (KK).

2.3 Prosedur penelitian

2.3.1 Pengumpulan dan pengolahan bahan tanaman.

Tanaman kumis kucing varietas putih diperoleh dari Kebun Tanaman Obat Manoko, Lembang, Jawa Barat. Umur tanaman kumis kucing yang digunakan adalah sembilan bulan, pengambilan dilakukan pada bulan Februari tahun 2020. Kebun percobaan manoko berada pada ketinggian 1.200 mdpl dengan curah hujan 1.756 mm dalam satu tahun, temperatur minimum 15.5 °C Kelembaban 85,12% dan jenis tanah Andosol. Daun kumis kucing segar sebanyak 2,5 kg dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Berat simplisia yang didapat adalah 1,35 kg. Determinasi tanaman dilakukan dengan mengirimkan sampel kepada Laboratorium taksonomi tumbuhan, Departemen Biologi FMIPA UNPAD.

2.3.2 Penapisan fitokimia.

Penapisan fitokimia meliputi identifikasi golongan steroid-triterpenoid, alkaloid, tanin, monoterpenoid-seskuiterpenoid, flavonoid, kuinon, saponin dan polifenol (Anonim, 2017).

2.3.3 Standardisasi simplisia.

Pemeriksaan karakterisasi simplisia meliputi kadar sari larut etanol, kadar air, kadar abu tidak larut asam, kadar abu larut air, kadar sari larut air dan kadar abu total (Anonim, 2017).

2.3.4 Isolasi sinensetin.

- Ekstraksi daun kumis kucing

Serbuk simplisia daun kumis kucing sebanyak 200 g diekstraksi dengan maserasi menggunakan 1 L pelarut etanol 96% selama 24 jam, proses ekstraksi dilakukan 3 kali pengulangan. Terhadap maserat yang diperoleh dilakukan proses pemekatan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan uapkan di atas penangas air untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak yang sudah pekat ditimbang dan dihitung % rendemen.

- Partisi daun kumis kucing

Ekstrak kental sebanyak 24,834 g ditambahkan air 100 mL. Ekstrak air dimasukkan ke dalam corong pisah dan dilakukan penambahan n-heksan dengan perbandingan 1:1. Setelah itu dikocok dan didiamkan hingga kedua pelarut terpisah sempurna, proses ini dilakukan sebanyak 3 kali. Lapisan air kembali dimasukkan ke dalam corong pisah untuk selanjutnya ditambahkan etil asetat (1:1) kemudian dikocok dan didiamkan hingga terpisah, diulangi hingga 3 kali. Lapisan air, etil asetat dan n-heksan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga mendapatkan fraksi kental. Dari ketiga fraksi yang diperoleh kemudian diuapkan dengan penangas air hingga menghasilkan fraksi kental.

2.3.5 Pemantauan profil fitokimia menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Proses elusi KLT dilakukan menggunakan chamber kromatografi yang berisi fase gerak n-heksana : etil asetat (3:7), kloroform : etil asetat (60:40) dan fase diam silika gel GF₂₅₄. Plat silika gel GF₂₅₄ di potong dengan ukuran 2×8,5 cm, kemudian diberi jarak 1 cm pada bagian bawah yang digunakan untuk menotolkan sampel pembanding dari sinensetin dan 0,5 cm dibagian atas sebagai batas elusi. Setelah proses elusi selesai kemudian diamati dibawah UV 254 nm dan UV 366 nm. Plat KLT kemudian disemprotkan pereaksi penampak bercak sitroborat yang spesifik untuk golongan flavonoid (Santosa dan Haresmita, 2015). Pereaksi sitroborat dibuat dengan cara menimbang 0,5 g asam sitrat dan 0,5 g asam borat dilarutkan dalam etanol (50 mL).

2.3.6 Kromatografi Cair Vakum (KCV).

Proses pemisahan lanjutan menggunakan kromatografi cair vakum (KCV). Silika gel H60 sebanyak 150 g dimasukkan kedalam kolom KCV dan bagian atas kolom dilapisi dengan kertas saring. Kemudian ekstrak pekat ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam mortir serta ditambahkan sebagian silika gel H60 sebanyak 5 g. Proses elusi dilakukan menggunakan sistem elusi bertingkat dengan fasa gerak n heksan : etil asetat dengan perbandingan 100 : 0 sampai 0 : 100, volume dalam satu kali elusi adalah 100 mL Pada proses KCV menghasilkan 11 subfraksi. Subfraksi 8 dan 9 (SFA) serta 10 -11 (SFB) digabung

karena memiliki pola profil KLT yang sama. Pemisahan lanjutan menggunakan kromatografi kolom dilakukan pada gabungan subfraksi 8-11 (3,25 gram), dimana pada fraksi tersebut terdeteksi adanya senyawa sinensetin. Sistem fasa gerak sama dengan sistem pada KCV. Subfraksi yang memiliki pola bercak yang sama kemudian digabung. Hasil kromatografi kolom mendapatkan 142 subfraksi kolom (SFK). Pada rentang SFK 91 – 124 terdeteksi adanya senyawa sinensetin. Dari hasil penggabungan SFK dihasilkan beberapa sampel yaitu SFKA (SFK 91,94,98,103,108,109,110,112,114), SFKB (SFK 115,116,118,119), SFKC (SFK 120-123) dan SFKD (SFK 124).

2.3.7 Pemisahan lanjutan dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP).

Analisis dengan KLTP diawali dengan menyiapkan plat silika GF₂₅₄ sebagai fase diam, proses pembuatan plat dengan membuat silika gel 60 F₂₅₄ sebanyak 25 gram dalam 50 mL aquadest (1:2) kemudian dikocok hingga homogen kemudian tuangkan pada plat kaca berukuran 20×20 cm. Fasa gerak yang digunakan adalah n-heksan : etil asetat (3 : 7). Aplikasikan SFK A sebanyak 60,5 mg pada plat sehingga membentuk pita yang dilihat di bawah lampu UV 365 nm. Pita yang teramati kemudian dipisahkan dan ditambahkan pelarut etil asetat untuk selanjutnya diidentifikasi menggunakan KLT

2.3.8 Uji kemurnian.

Uji kemurnian dilakukan dengan metode KLT 2 dimensi. Isolat yang telah diperoleh kemudian ditotolkan pada plat KLT dengan ukuran 10x10 cm, kemudian dielusi menggunakan pelarut yang sesuai. Pada saat elusi yang pertama selesai, selanjutnya plat diputar 90° berlawanan arah jarum jam. Setelah proses elusi yang kedua selesai kemudian diamati dibawah lampu UV 254 nm dan UV 365 nm.

2.3.9 Identifikasi isolat dengan Spektrofotometri UV-Vis.

Identifikasi isolat dengan menggunakan instrumen spektrofotometri *Uv-Visible* untuk mengetahui panjang gelombang dari isolat dan dibandingkan dengan standar sinensetin (324,1 nm). Sampel dilarutkan dalam pelarut metanol. Kemudian dicatat hasil absorbansi dan spektrum dari sampel yang digunakan.

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil determinasi bahan tanaman yang dilakukan di laboratorium taksonomi tumbuhan, Departemen Biologi FMIPA UNPAD dengan nomor surat No.20/HB/09/2020 menjelaskan bahwa jenis tanaman yang diteliti mempunyai nama Ilmiah *Orthosiphon aristatus*, sinonim *Orthosiphon stamineus* Benth, nama lokal kumis kucing, famili *Lamiaceae*.

Perbedaan paling mendasar antara kumis kucing varietas ungu dan putih, yaitu pada morfologi bunganya, terutama warna mahkotanya (Keng & Siong, 2006). Pada varietas putih

warna mahkota berwarna putih, sedangkan pada varietas ungu warna mahkota ungu (Gambar 2).



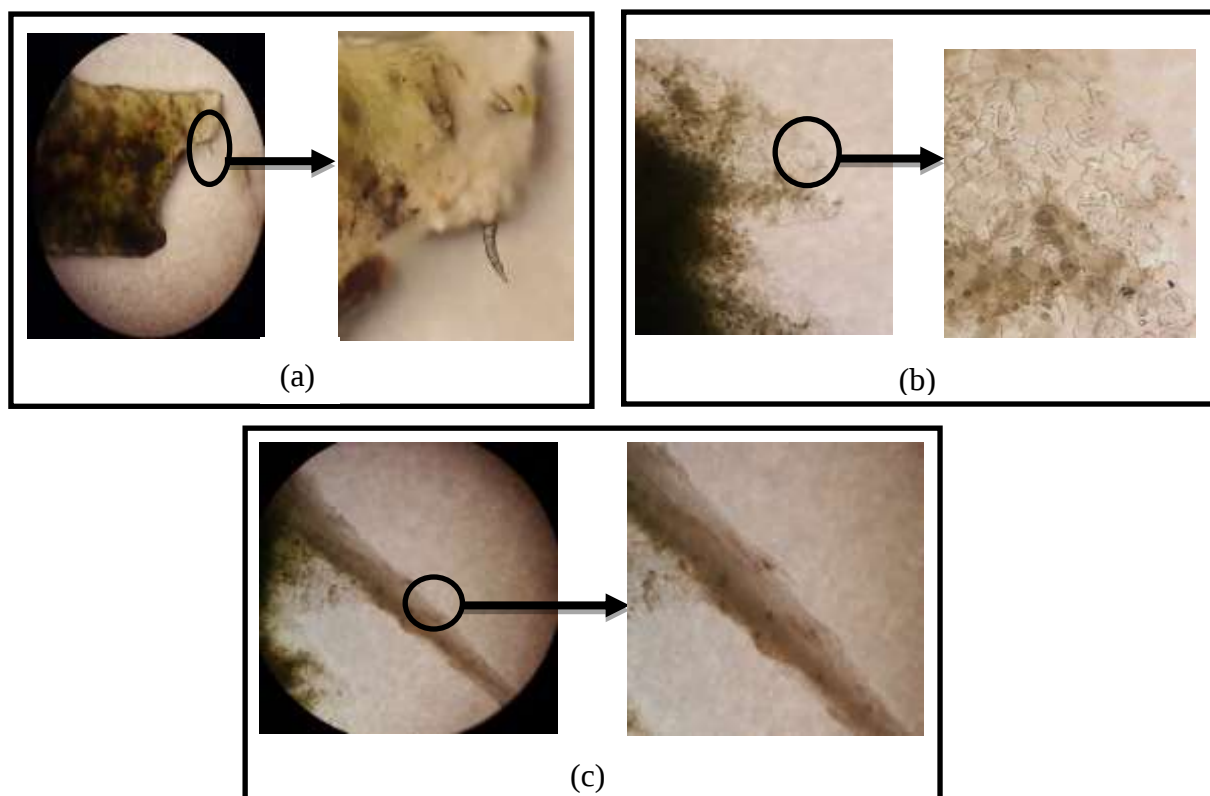
Gambar 2. Tanaman kumis kucing. kumis kucing varietas ungu (a) dan kumis kucing varietas putih (b).

Pengamatan mikroskopik sayatan membujur daun kumis kucing dengan menggunakan pelarut kloralhidrat dan perbesaran menunjukkan adanya rambut penutup, stomata tipe diasitik dan epidermis bawah dengan rambut penutup (Gambar 3). Menurut Farmakope Herbal Indonesia (FHI) edisi II fragmen spesifik dari tanaman kumis kucing adalah epidermis bawah dengan stomata, rambut sisik dan berkas pengangkut tipe spiral, rambut penutup dan epidermis atas dengan rambut penutup (Anonim, 2017).

Bahan baku daun kumis kucing varietas putih diperoleh dari kebun percobaan Manoko Lembang Kabupaten Bandung Barat. Waktu pengambilan sampel pada Februari 2019. Sebanyak 1000 gram bahan segar kumis kucing varietas putih diambil dan kemudian dikeringkan dalam lemari pengering dengan suhu 60°C. Hasil simplisia kering sebanyak 525 gram.

Hasil penapisan fitokimia dari simplisia dan ekstrak etanol kumis kucing varietas putih mengandung senyawa golongan monoterpenoid-seskuiterpenoid flavonoid, tanin, saponin, polifenol, kuinondan steroid-triterpenoid (Tabel 1). Hasil penapisan fitokimia sejalan dengan yang dilaporkan Guo *et al.* pada tahun 2019, dimana tanaman kumis kucing mengandung golongan senyawa asam fenolik, flavonoid, diterpen dan asam lemak (Guo *et al.*, 2019). Hasil penelitian lainnya melaporkan golongan metabolit sekunder yang ada pada tanaman kumis kucing varietas ungu dan putih-ungu adalah polifenol, flavonoid, alkaloid, monoterpenoid dan seskuiterpenoid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid, (Faramayuda *et al*, 2020), dari laporan tersebut terdapat perbedaan dimana hasil penapisan fitokimia pada penelitian ini tidak menunjukkan adanya golongan alkaloid. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Guo (2019) tidak dilaporkan adanya golongan alkaloid pada daun kumis kucing. Penapisan fitokimia bertujuan untuk mengetahui golongan metabolit sekunder dari suatu sampel. Hasil

penapisan menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid yang merupakan inti struktur dari senyawa sinensetin.



Gambar 3. Analisis mikroskopik daun kumis kucing. (a) rambut penutup, (b) stomata tipe diasitik dan (c) epidermis bawah dengan rambut penutup.

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak tanaman kumis kucing varietas putih. (-) = Tidak terdeteksi golongan senyawa metabolit sekunder yang diuji, (+) = Terdeteksi golongan senyawa metabolit sekunder yang diuji.

Metabolit Sekunder	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	-	-
Flavonoid	+	+
Saponin	+	+
Polifenol	+	+
Kuinon	+	+
Tanin	+	+
Monoterpenoid-Seskuiterpenoid	+	+
Steroid-Triterpenoid	+	+

Pemeriksaan karakterisasi simplisia bertujuan untuk menstandarisasi bahan baku yang akan dikembangkan menjadi tanaman obat tradisional dan pada akhirnya akan menjaga konsistensi kualitas, efektifitas serta keamanan obat tradisional. Hasil karakterisasi simplisia tanaman kumis kucing varietas putih dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan standar yang tercantum dalam Farmakope Herbal Indonesia (FHI) Edisi II nilai parameter karakterisasi simplisia kadar abu total dan tidak larut asam simplisia tanaman kumis kucing belum memenuhi persyaratan, hal ini bisa disebabkan karena pengaruh lokasi tumbuh seperti

kandungan mineral dalam tanah dan air. kadar abu total meliputi abu fisiologis dan abu yang berasal dari cemaran polusi udara, tanah dan air. Abu tak larut asam menunjukkan adanya silika, dan abu larut air menunjukkan abu yang berasal dari garam larut air (Na dan Mg). Hasil penetapan kadar sari larut air, etanol dan kadar air memenuhi syarat dalam FHI edisi II (Anonim, 2017).

Maserasi merupakan ekstraksi cara dingin sehingga senyawa diharapkan tidak rusak dengan adanya pemanasan dan dilakukan dengan proses yang mudah serta sederhana. Simplisia yang diekstraksi sebanyak 200 g dalam 3 L etanol 96%, ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator dan diuapkan hingga memperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 26,835 g dan persen rendemen sebanyak 13,417 % b/b.

Rendemen fraksi yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 3. Fraksi n-heksan menghasilkan rendemen yang paling tinggi dibandingkan fraksi lainnya, hasil ini menunjukkan bahwa sebaran senyawa yang bersifat non polar lebih banyak.

Profil KLT dari tiga Fraksi dengan fasa gerak n-heksan : etil asetat (3:7) terdeteksi adanya senyawa sinensetin pada fraksi etil asetat dan n-heksan pada *retention factor* (Rf) 0,4 (Gambar4), sedangkan dengan fasa gerak kloroform : etil asetat (6:4) sinensetin terdeteksi pada fraksi etil asetat dan n-heksan dengan Rf 0,41. Sinensetin termasuk golongan senyawa flavon polimetoksi adanya gugus metoksi membuat senyawa ini bersifat semi polar dan cenderung mengarah non polar (Pang *et al.*, 2014), oleh karena itu sinensetin terdeteksi pada fraksi etil asetat dan n-heksana.

Tabel 2. Hasil penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak tanaman kumis kucing varietas putih.

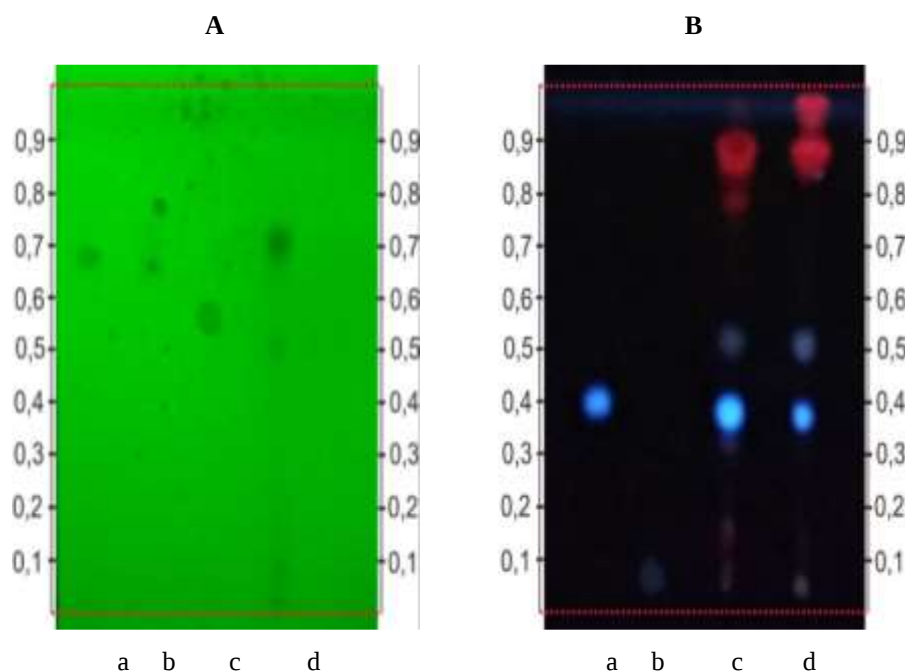
Parameter Pemeriksaan	Hasil	Standar nilai rujukan (FHI Edisi II)
Kadar Abu Total	10,576 ± 0,3608 % (b/b)	≤ 10,2 % b/b
Kadar Abu Tidak Larut Asam	9,712 ± 0,0385 % (b/b)	≤ 3,4 % b/b
Kadar Abu Larut Air	4,262 ± 0,0698 % (b/b)	-
Kadar Sari Larut Etanol	11,882 ± 0,3152 % (b/b)	≥ 7,2 % b/b
Kadar Air	4,998 ± 0,4892 % (v/b)	≤ 10 % v/b
Kadar Sari Larut Air	12,044 ± 0,5719 % (b/b)	≥ 10,2 % b/b

Fraksi etil asetat merupakan fraksi terpilih yang akan dilanjutkan pada tahap pemisahan lanjutan menggunakan kromatografi cair vakum (KCV). Sinensetin lebih berfluoresensi pada fraksi etil asetat dibandingkan dengan fraksi n-heksan. Beberapa laporan penelitian tentang ekstraksi dan penetapan kadar kumis kucing diantaranya adalah pemantauan profil KLT varietas kumis kucing dengan fase gerak kloroform - etil asetat (60:40), dimana sinensetin

terdeteksi pada pada Rf 0,49 (Hossain & Ismail, 2016), laporan tersebut tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian dimana Rf senyawa sinensetin terdeteksi pada Rf 0,41.

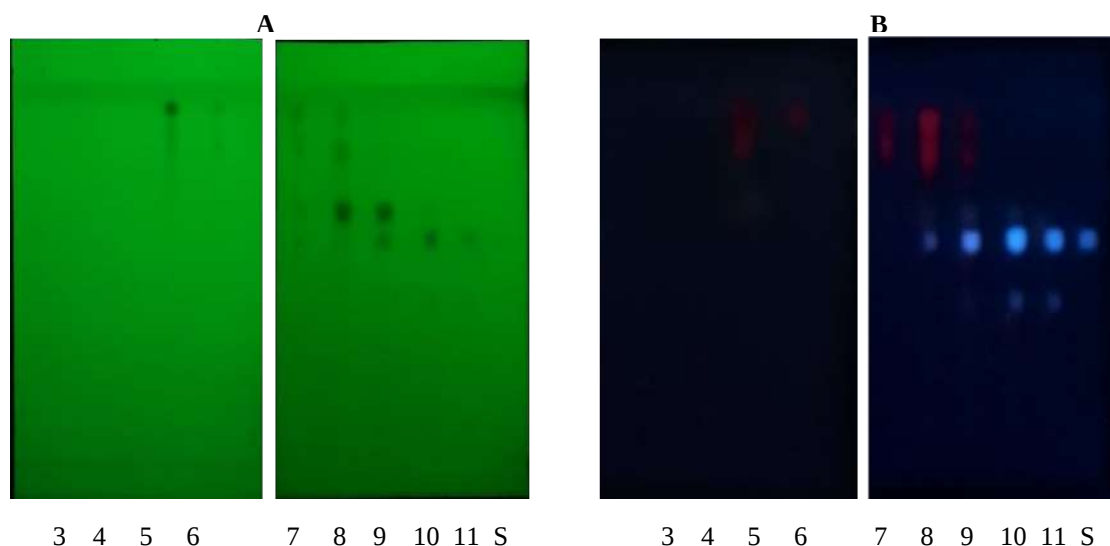
Tabel 3. Hasil rendemen fraksi air, etil asetat dan n-heksan kumis kucing varietas putih.

Fraksi	Berat Fraksi (g)	Rendemen (%)
Air	2,945	11,858
Etil asetat	7,586	30,548
n-heksana	12,544	50,511



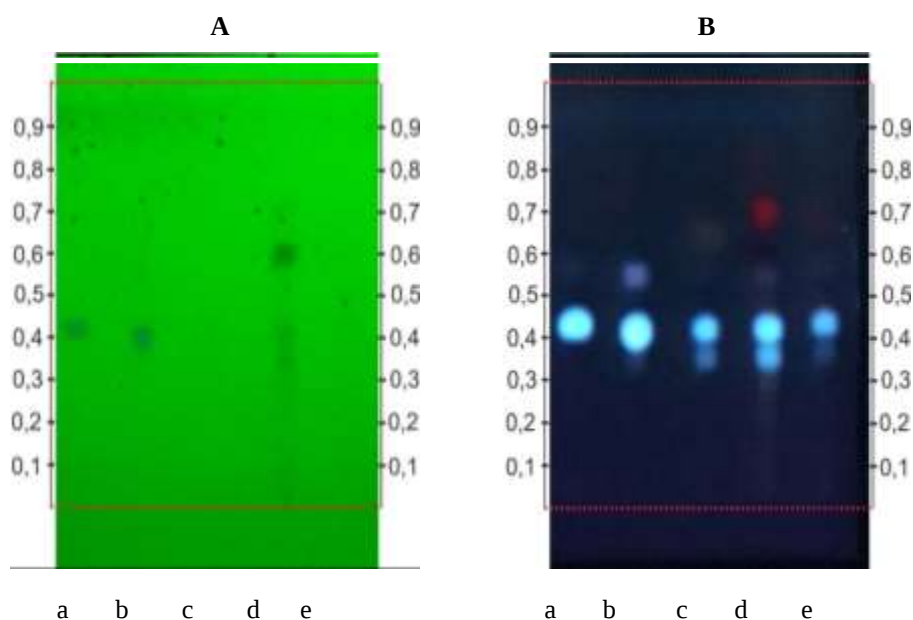
Gambar 4. Profil KLT Fraksi air, etil asetat dan n-heksan kumis kucing pada fasa gerak n-heksan : etil asetat (3:7). (A) lampu UV 254 nm, (B) 365 nm, (a) standar sinensetin, (b) fraksi air, (c) fraksi etil asetat dan (d) fraksi n-heksana.

Hasil KCV fraksi etil asetat menghasilkan 11 subfraksi, namun yang terdeteksi adanya senyawa sinensetin ada pada subfraksi 8 – 11 dengan nilai Rf 0.68 (Gambar 5). Pemisahan lanjutan dilakukan kembali dengan menggunakan kromatografi kolom dengan sistem fasa gerak gradien n-heksan : etil asetat. Sampel yang digunakan untuk kromatografi kolom adalah gabungan subfraksi 8-11. penggabungan kedua subfraksi tersebut didasarkan kesamaan profil KLT. Dari hasil kromatografi kolom dihasilkan 142 subfraksi kolom (SFK). Pada rentang SFK 91 – 124 terdeteksi adanya senyawa sinensetin, sedangkan SFK yang lainnya tidak terdeteksi adanya senyawa sinensetin. Pada SFK 91 – 124 yang mempunyai profil KLT yang sama digabungkan dan dilakukan pemantauan KLT kembali. Dari hasil penggabungan SFK dihasilkan beberapa sampel yaitu SFKA (SFK 91,94,98,103,108,109,110,112,114), SFKB (SFK 115,116,118,119), SFKC (SFK 120-123) dan SFKD (SFK 124).



Gambar 5. Profil KLT subfraksi 3-11 hasil kromatografi cair vakum (KCV) dengan fasa gerak kloroform : etil asetat 6 : 4 (A) lampu UV 254 nm (B) 365 nm.

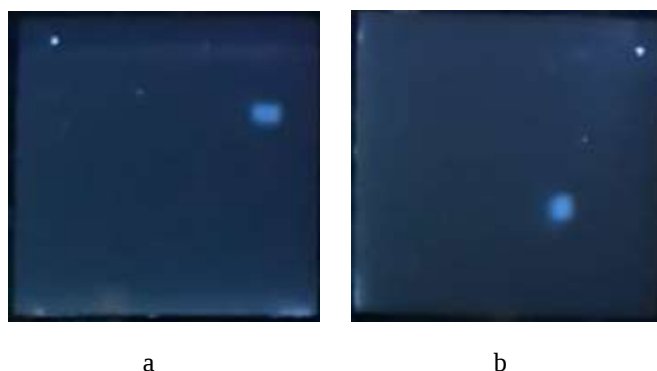
Pemantauan KLT yang dilakukan terhadap SFK A – D dengan fasa gerak n-heksan : etil asetat (3:7), dari hasil gabungan subfraksi kolom tersebut senyawa sinensetin terdeteksi pada SFK A – D dengan R_f 0,5 (Gambar 6). SFK A menghasilkan fluoresensi yang terang dibandingkan dengan sub fraksi lainnya dan memiliki profil KLT yang baik, sehingga SFK A dilanjutkan pada tahap pemurnian menggunakan KLTP.



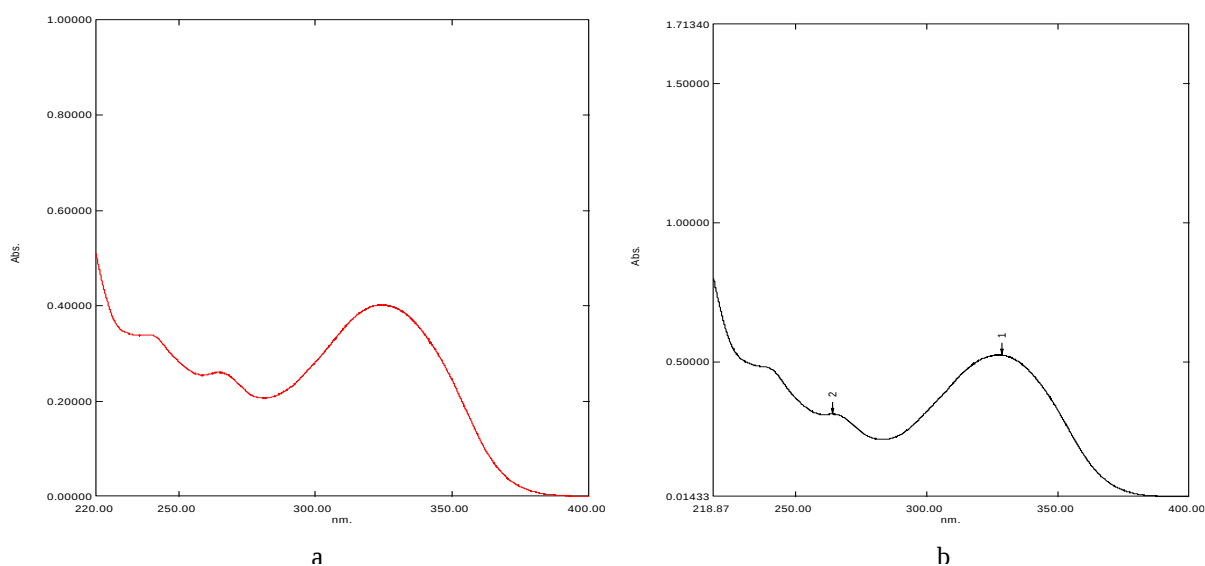
Gambar 6. Profil KLT gabungan subfraksi hasil kromatografi kolom (SFK) dengan fasa gerak n-heksan : etil asetat 3 : 7 (A) lampu UV 254 nm (B) 365 nm. (a) standar sinensetin, (b) SFK A, (c) SFK B, (d) SFK C, (e) SFK D

Analisa kemurnian terhadap isolat yang diperoleh menggunakan KLT 2D menunjukkan tetap muncul satu bercak dengan dua fasa gerak yang berbeda tingkat kepolarannya (Gambar 7). Identifikasi isolat dengan alat spektrofotometri UV-Vis menghasilkan pola spektrum

dengan dua pita, dimana pita I memiliki panjang gelombang 328.6 nm dan pita II 264.2 nm. Pola spektrum pada standar sinensetin teridentifikasi dua pita pula, panjang gelombang pada pita I 324,1 nm dan pita II 265,3 nm (Gambar 8). Adanya kemiripan profil spektrum isolat dan standar sinensetin, menunjukkan bahwa isolat diduga senyawa sinensetin.



Gambar 7. Kromatogram KLT 2D Isolat. (a) Fasa gerak pertama n-heksana:etil asetat (3:7) dan (b) fasa gerak ke 2 n-heksana:etil asetat (7:3)



Gambar 8. Profil spektrum UV isolat (a) dan standar sinensetin (b)

4. Kesimpulan

Senyawa sinensetin dalam tanaman kumis kucing varietas putih dapat diisolasi dengan cara diekstraksi melalui maserasi, ekstraksi cair-cair, kromatografi cair vakum dan kolom gravitasi. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar pengembangan produksi sinensetin sebagai suatu senyawa yang berpotensi sebagai anti virus dan imunomodulator.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didanai oleh Kementerian Riset dan Teknologi / Badan Riset dan Inovasi Nasional dengan nomor kontrak 2 / E1 / KP.PTNBH / 2020.

Deklarasi Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini

Daftar Pustaka

- Adam, Y., Somchit, M. N., Sulaiman, M. R., Nasaruddin, A. A., Zuraini, A., Bustamam, A. A., and Zakaria, Z. A. .2009. Diuretic properties of *Orthosiphon stamineus* Benth. *Journal of Ethnopharmacology* 124(1), 154–158. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.04.014>
- Adem, Ş., Eyupoglu, V., Sarfraz, I., Rasul, A., Zahoor, A. F., Ali, M., Abdalla, M., Ibrahim, I. M., and Elfiky, A. A. 2020. Caffeic Acid Derivatives (CAFDs) as Inhibitors of SARS-CoV-2: CAFDs-Based Functional Foods as A Potential Alternative Approach to Combat COVID-19. *Phytomedicine* 153310. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153310>
- Adnyana, I. K., Setiawan, F., and Insanu, M. 2013. From Ethnopharmacology to Clinical Study of *Orthosiphon stamineus* Benth. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 5(3).
- Anonim. *Farmakope Herbal Indonesia* (II). 2017. Kementerian Kesehatan RI. Jakarta, 261–264.
- Arafat, O. M., Tham, S. Y., Sadikun, A., Zhari, I., Haughton, P. J., and Asmawi, M. Z. 2008. Studies on Diuretic and Hypouricemic Effects of *Orthosiphon stamineus* Methanol Extracts in Rats. *Journal of Ethnopharmacology* 118(3), 354–360. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.04.015>
- Astani, A., Reichling, J., and Schnitzler, P. 2011. Screening for Antiviral Activities of Isolated Compounds from Essential Oils. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2011, 253643. <https://doi.org/10.1093/ecam/nep187>
- Astani, A., and Schnitzler, P. 2014. Antiviral Activity of Monoterpenes Beta-Pinene and Limonene Against Herpes Simplex Virus In Vitro. *Iranian Journal of Microbiology* retrieved from internet: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25870747/>, 6(3), 149–155.
- Batubara, I., Komariah, K., Sandrawati, A., and Nurcholis, W. 2020. Genotype Selection for Phytochemical Content And Pharmacological Activities in Ethanol Extracts of Fifteen Types of *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. Leaves Using Chemometric Analysis. *Scientific Reports* 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77991-2>
- Benencia, F., and Courreges, M. 2000. In Vitro and In Vivo Activity of Eugenol on Human Herpesvirus. *Phytotherapy Research : PTR* 14, 495–500. [https://doi.org/10.1002/1099-1573\(200011\)14:73.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/1099-1573(200011)14:73.0.CO;2-8)
- Berim, A., and Gang, D. R. 2016. Methoxylated Flavones: Occurrence, Importance, Biosynthesis. *Phytochemistry Reviews* Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/s11101-015-9426-0>
- Bourne, K. Z., Bourne, N., Reising, S. F., and Stanberry, L. R. 1999. Plant Products as Topical Microbicide Candidates: Assessment of In Vitro and In Vivo Activity Against Herpes Simplex Virus Type 2. *Antiviral Research* 42(3), 219–226. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0166-3542\(99\)00020-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0166-3542(99)00020-0)
- Chang, C.-D., Lin, P.-Y., Hsu, J.-L., and Shih, W.-L. 2016. Ursolic Acid Suppresses Hepatitis B Virus X Protein-mediated Autophagy and Chemotherapeutic Drug Resistance. *Anticancer Research* 36, 5097–5108. <https://doi.org/10.21873/anticanres.11079>
- Dahab, M. A., Hegazy, M. M., and Abbass, H. S. 2020. Hordatines as a Potential Inhibitor of COVID-19 Main Protease and RNA Polymerase: An In-Silico Approach. *Natural Products and Bioprospecting* 10(6), 453–462. <https://doi.org/10.1007/s13659-020-00275-9>
- Du, Q., and Chen, H. 2010. The Methoxyflavones in *Citrus reticulata* Blanco Cv. Ponkan and their antiproliferative activity against cancer cells. *Food Chem.* 119, 567–572.

- doi:10.1016/j.foodchem.2009.06.059
- Duan, S.-P., Zhu, L.-H., Li, P., Song, X.-W., Wang, H.-W., and Shen, B.-S. 2016. Effect and Mechanism of Danshensu on Hepatitis B Virus Reverse Transcriptase and Antigen Expression. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi = Zhongguo Zhongyao Zazhi = China Journal of Chinese Materia Medica* 41, 1297–1301. <https://doi.org/10.4268/cjcmm20160722>
- Faramayuda, F., Mariani, T. S., Elfahmi and Sukrasno. 2020. Short Communication : Callus Induction in Purple and White-Purple Varieties of *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. *Biodiversitas* 21(10), 4967–4972. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d211063>
- Faramayuda, F., Mariani, T. S., Elfahmi and Sukrasno. 2021. Tropical Journal of Natural Product Research Potential of *Orthosiphon aristatus* Blume Miq as Antiviral: A Review. *Trop J Nat Prod Res*, 5(3):410-419. doi.org/10.26538/tjnpr/v5i3.1
- Febjislami, S. .2017. Identifikasi Karakter Morfologi, Argonomi, Kandungan Senyawa Bioaktif dan Tipe Produksi Biji Beberapa Aksesori Tanaman Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq). *Jurnal Hortikultura Indonesia* 1–14.
- Febjislami, S., Kurniawati, A., Melati, M., and Wahyu, Y. 2019. Morphological Characters, Flowering and Seed Germination of The Indonesian Medicinal Plant *Orthosiphon aristatus*. *Biodiversitas* 20, 328–337. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200204>
- Friedman, T. 2015. The Effect of Rosmarinic Acid on Immunological and Neurological Systems: A Basic Science and Clinical Review. *Journal of Restorative Medicine* 4, 50–59. <https://doi.org/10.14200/jrm.2015.4.0105>
- Guo, Z., Liang, X., and Xie, Y. 2019. Qualitative and Quantitative Analysis on The Chemical Constituents in *Orthosiphon stamineus* Benth. Using Ultra High-Performance Liquid Chromatography Coupled With Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 164, 135–147. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.10.023>
- Haid, S., Novodomska, A., Gentzsch, J., Grethe, C., Geuenich, S., Bankwitz, D., Chhatwal, P., Jannack, B., Hennebelle, T., Bailleul, F., Keppler, O. T., Poenisch, M., Bartenschlager, R., Hernandez, C., Lemasson, M., Rosenberg, A. R., Wong–Staal, F., Davioud–Charvet, E., and Pietschmann, T. 2012. A Plant-Derived Flavonoid Inhibits Entry of All HCV Genotypes Into Human Hepatocytes. *Gastroenterology* 143(1), 213–222.e5. <https://doi.org/https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.03.036>
- Halim, N. H., Pauzi, N., Hamil, S. H. R., Shafaei, A., Ismail, Z., and Mohd, K. S. 2017. Standardization of *Orthosiphon stamineus* Raw Material and Extracts for Anti-Uterine Fibroid. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 9(4), 512–515.
- Harun, N. H., Septama, A. W., and Jantan, I. 2015. Immunomodulatory Effects of Selected Malaysian Plants on The CD18/11a Expression and Phagocytosis Activities of Leukocytes. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 5(1), 48–53. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(15\)30170-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S2221-1691(15)30170-2)
- Ikeda, K., Tsujimoto, K., Uozaki, M., Nishide, M., Suzuki, Y., Koyama, H., and Yamasaki, H. 2011. Inhibition of Multiplication of Herpes Simplex Virus by Caffeic Acid. *International Journal of Molecular Medicine* 28, 595–598. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2011.739>
- Kashiwada, Y., Wang, H.-K., Nagao, T., Kitanaka, S., Yasuda, I., Fujioka, T., Yamagishi, T., Cosentino, L. M., Kozuka, M., Okabe, H., Ikeshiro, Y., Hu, C.-Q., Yeh, E., and Lee, K.-H. 1998. Anti-AIDS Agents. 30. Anti-HIV Activity of Oleanolic Acid, Pomolic Acid, and Structurally Related Triterpenoids. *Journal of Natural Products* 61(9), 1090–1095. <https://doi.org/10.1021/np9800710>
- Keng, L. C., and Siong, P. L. 2006. Morphological Similarities and Differences between the Two Varieties of Cat's Whiskers (*Orthosiphon stamineus* Benth.) grown in Malaysia. *International Journal of Botany* 2. <https://doi.org/10.3923/ijb.2006.1.6>

- Kim, H. K., Lee, J., Lee, J. S., Park, Y.-M., and Yoon, T. 2008. Rosmarinic Acid Down-Regulates the LPS-Induced Production of Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) and Macrophage Inflammatory Protein-1 alpha (MIP-1 alpha) via the MAPK Pathway in Bone-Marrow Derived Dendritic Cells. *Molecules and Cells* 26, 583–589.
- Kong, L., Li, S., Liao, Q., Zhang, Y., Sun, R., Zhu, X., Zhang, Q., Wang, J., Wu, X., Fang, X., and Zhu, Y. 2013. Oleanolic acid and ursolic acid: Novel Hepatitis C Virus Antivirals That Inhibit NS5B Activity, *Antiviral Research* 98(1), 44–53. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.02.003>
- Lin, Z., Neamati, N., Zhao, H., Kiryu, Y., Turpin, J. A., Aberham, C., Strebel, K., Kohn, K., Witvrouw, M., Pannecouque, C., Debyser, Z., De Clercq, E., Rice, W. G., Pommier, Y., and Burke, T. R. 1999. Chicoric Acid Analogues as HIV-1 Integrase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* 42(8), 1401–1414. <https://doi.org/10.1021/jm980531m>
- Maheswari, C., Maryammal, R., and Venkatanarayanan, R. 2008. Hepatoprotective Activity of “*Orthosiphon stamineus*” on Liver Damage Caused by Paracetamol in Rats. *Jordan J Biol Sci*, 1.
- Matsubara, T., Bohkagi, T., Watarai, M., Suzuki, H., Ohashi, K., and Shibuya, H. 1999. Antihypertensive Action of Methylripariochromene A from *Orthosiphon aristatus*, an Indonesian Traditional Medicinal Plant. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* (43), 2091.
- Maulana, I., Triatmoko, B., dan Nugraha, A. 2020. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Tanaman Senggugu (*Rothea serrata* (L.) Steane & Mabb.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 5, 1. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v5i1.32200>
- McDougall, B., King, P. J., Wu, B. W., Hostomsky, Z., Reinecke, M. G., and Robinson, W. E. 1998. Dicafeoylquinic and Dicafeoyltartaric Acids Are Selective Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 42(1), 140 LP – 146. <https://doi.org/10.1128/AAC.42.1.140>
- Medini, F., Megdiche, W., Mshvildadze, V., Pichette, A., Legault, J., St-Gelais, A., and Ksouri, R. 2016. Antiviral-Guided Fractionation and Isolation of Phenolic Compounds From *Limonium densiflorum* Hydroalcoholic Extract. *Comptes Rendus Chimie* 19(6), 726–732. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.crci.2016.03.006>
- Mengoni, F., Lichtner, M., Battinelli, L., Marzi, M., Mastroianni, C., Vullo, V., and Mazzanti, G. 2002. In vitro Anti-HIV Activity of Oleanolic Acid on Infected Human Mononuclear Cells. *Planta Medica* 68, 111–114. <https://doi.org/10.1055/s-2002-20256>
- Mohamed, E., Pin Lim, C., Saad Ebrika, O., Abdullah, M., Sadikun, A., and Yam, M. (2010): Toxicity Evaluation of A Standardised 50% Ethanol Extract of *Orthosiphon stamineus*. *Journal of ethnopharmacology* 133, 358–363. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.10.008>
- Muhammad, H., Sulaiman, S. A., Ismail, Z., and Paumgarten, F. J. R. 2013. Study on The Developmental Toxicity Of A Standardized Extract of *Orthosiphon stamineus* in Rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia - Brazilian Journal of Pharmacognosy* 23(3), 513–520. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013005000039>
- Nagase, H., Omae, N., Omori, A., Nakagawasai, O., Tadano, T., Yokosuka, A., et al. 2005. Nobiletin and its related flavonoids with Cre-dependent transcriptionstimulating and neuritegenic activities. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 337, 1330–1336. doi:10.1016/j.bbrc.2005.10.001
- Nakanishi, M., Hino, M., Yoshimura, M., Amakura, Y., and Nomoto, H. 2019. Identification of sinensetin and nobiletin as major antitrypanosomal factors in a *Citrus cultivar*. *Exp. Parasitol.* 200, 24–29. doi:10.1016/j.exppara.2019.03.008
- Narkhede, R. R., Pise, A. V., Cheke, R. S., and Shinde, S. D. 2020. Recognition of Natural Products as Potential Inhibitors of COVID-19 Main Protease (Mpro): In-Silico Evidences. *Natural Products and Bioprospecting* 10(5), 297–306. <https://doi.org/10.1007/s13659-020-00253-1>

- Olah, N.-K., Radu, L., Mogosan, C., Hanganu, D., and Gocan, S. 2003. Phytochemical and Pharmacological Studies on *Orthosiphon stamineus* Benth. (*Lamiaceae*) Hydroalcoholic Extracts. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 33(1), 117–123. [https://doi.org/10.1016/s0731-7085\(03\)00227-9](https://doi.org/10.1016/s0731-7085(03)00227-9)
- Pang, S. F., Yusoff, M., and Gimbut, J. 2014. Extraction and Microencapsulation of Polyphenols from *Orthosiphon Stamineus* Leaves, *Journal Of Mechanical Engineering And Sciences* 7, 1033–1041. <https://doi.org/10.15282/jmes.7.2014.2.010>
- Pauzi, N., Mohd, K. S., Hidayah, N., and Halim, A. 2018. *Orthosiphon stamineus* Extracts Inhibits Proliferation and Induces Apoptosis in Uterine Fibroid Cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 19, 2737–2744. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.10.2737>
- Premgamone, A., Sriboonlue, P., Disatapornjaroen, W., Maskasem, S., Sinsupan, N., and Apinives, C. 2001. A Long-Term Study on The Efficacy of A Herbal Plant, *Orthosiphon Grandiflorus*, and Sodium Potassium Citrate in Renal Calculi Treatment. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 32(3), 654–660.
- Ripim, M., Fazil, N., Ibrahim, K., Bahtiar, A., Wai, C., Ibrahim, N., and Nor, M. 2018. Antiviral Properties of *Orthosiphon stamineus* Aqueous Extract in Herpes Simplex Virus Type 1 Infected Cells. *Sains Malaysiana* 47(8), 1725–1730.
- Rowaiye, Adekunle, Olukemi Onuh, Joy Oladimeji-Salami, Doofan Bur, Moses Njoku, Ifedilichukwu Nma, Comfort John, Olanike Binuyo, and Faith Pius. In silico identification of the potential natural inhibitors of SARS-CoV-2 Guanine-N7 Methyltransferase. ChemRxiv. 2020; 2020:1-39
- Savitri, G., Triatmoko, B., and Nugraha, A. 2020. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Tumbuhan Anyang-Anyang (*Elaeocarpus grandiflorus* J. E. Smith.) terhadap *Escherichia coli*, *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 5, 22. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v5i1.32206>
- Sanbongi, C., Takano, H., Osakabe, N., Sasa, N., Natsume, M., Yanagisawa, R., Inoue, K. —, Sadakane, K., Ichinose, T., and Yoshikawa, T. 2004. Rosmarinic Acid in Perilla Extract Inhibits Allergic Inflammation Induced by Mite Allergen, in A Mouse Model. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 34, 971–977. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2004.01979.x>
- Santosa, D. and P. Haresmita. 2015. Antioxidant Activity Determination *Garcinia dulcis* (Roxb) Kurz., *Blumea mollis* (D.Don) Merr., *Siegesbeckia orientalis* L., and *Salvia riparia* HBK which collected from Taman Nasional Gunung Merapi Using DPPH (2,2-diphenil-1-pikril-hidrazil) and Thin Layer Chromatography'. *Majalah Obat Tradisional*. doi: 10.22146/tradmedj.7746.
- Sarkar, K., and Das, R. 2020. Preliminary Identification of Hamamelitannin and Rosmarinic Acid as COVID-19 Inhibitors Based on Molecular Docking. *Letters in Drug Design & Discovery* 17. <https://doi.org/10.2174/1570180817999200802032126>
- Sekiou, O., Bouziane, I., Bouslama, Z., and Djemel, A. 2020. In-Silico Identification of Potent Inhibitors of COVID-19 Main Protease (Mpro) and Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE2) from Natural Products: Quercetin, Hispidulin, and Cirsimaritin Exhibited Better Potential Inhibition than Hydroxy-Chloroquine Against. *ChemRxiv*. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.12181404>
- Sharifi-Rad, J., Salehi, B., Baghalpour, N., Kobarfard, F., Sharifi-Rad, M., and Mohammadzade, M. 2018. Antiviral Activity of Monoterpenes Thymol, Carvacrol and P-Cymene Against Herpes Simplex Virus In Vitro. *International Pharmacy Acta* 1(1): 73-73.
- Sharma, A. D., and Kaur, I. 2020. Eucalyptol (1,8 cineole) from Eucalyptus Essential Oil A Potential Inhibitor of COVID 19 Corona Virus Infection by Molecular Docking Studies. Preprints 2020030455. (March). <https://doi.org/10.20944/preprints202003.0455.v1>

- Takano, H., Osakabe, N., Sanbongi, C., Yanagisawa, R., Inoue, K., Yasuda, A., Natsume, M., Baba, S., Ichiishi, E., and Yoshikawa, T. 2004. Extract of *Perilla frutescens* Enriched for Rosmarinic Acid, a Polyphenolic Phytochemical, Inhibits Seasonal Allergic Rhinoconjunctivitis in Humans. *Experimental Biology and Medicine* (Maywood, N.J.) 229, 247–254. <https://doi.org/10.1177/153537020422900305>
- Woottisin, S., Hossain, R. Z., Yachantha, C., Sriboonlue, P., Ogawa, Y., and Saito, S. 2011. Effects of *Orthosiphon grandiflorus*, *Hibiscus sabdariffa* and *Phyllanthus amarus* Extracts on Risk Factors for Urinary Calcium Oxalate Stones in Rats. *The Journal of Urology* 185(1), 323–328. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2010.09.003>
- Xu, H.-X., Zeng, F.-Q., Wan, M., and Sim, K.-Y. 1996. Anti-HIV Triterpene Acids from *Geum japonicum*. *Journal of Natural Products* 59(7), 643–645. <https://doi.org/10.1021/np960165e>
- Yam, M., Abdullah, M., and Basir, R. 2008. An Investigation of the Anti-Inflammatory and Analgesic Effects of *Orthosiphon stamineus* Leaf Extract. *Journal of medicinal food* 11, 362–368. <https://doi.org/10.1089/jmf.2006.065>
- Yam, M., Basir, R., Abdullah, M., and Ismail, Z. 2007. Antioxidant and Hepatoprotective Effects of *Orthosiphon stamineus* Benth. *The American journal of Chinese medicine* 35, 115–126. <https://doi.org/10.1142/S0192415X07004679>
- Youn, J., Lee, K., Won, J., Huh, S., Yun, H., and Cho, W. 2003. Beneficial Effects of Rosmarinic Acid on Suppression of Collagen Induced Arthritis. *J Rheumatol* 30(6). 1203–1207.
- Zhang, H.-S., Chen, X.-Y., Wu, T.-C., and Zhang, F.-J. 2014. Tanshinone II A inhibits Tat-induced HIV-1 transactivation through redox-regulated AMPK/Nampt pathway. *Journal of Cellular Physiology* 229. <https://doi.org/10.1002/jcp.24552>.



© 2021 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).



Penelusuran dan Isolasi Fungi Tanah Muara Pelabuhan Besuki Serta Skrining Aktivitas Antibakteri Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Mariatul Kibthiyah, Bawon Triatmoko, dan Ari Satia Nugraha*

Drug Utilisation and Discovery Research Groups, Fakultas Farmasi, Universitas Jember, Jl. Kalimantan 1/2, Jember, Indonesia, 68121

*email korespondensi: arisatia@unej.ac.id

Received 10 November 2021, Accepted 7 June 2021, Published 15 July 2021

Abstrak: Penyakit infeksi merupakan salah satu penyebab utama kematian di dunia. Terapi infeksi bakteri dengan antibiotik yang tidak tepat penggunaannya dapat menyebabkan resistensi. Penemuan antibiotik baru dapat berasal dari bahan alam, salah satunya fungi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat hasil fermentasi fungi khamir tanah muara terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Isolasi fungi tanah dilakukan menggunakan media *Potato dextrose Agar* (PDA) dilarutkan dalam air laut. Proses tersebut menghasilkan 7 isolat fungi kemudian disebut IS-PB-A1, IS-PB-A2, IS-PB-A3, IS-PB-T1, IS-PB-T2, IS-PB-B1, IS-PB-B2. Semua isolat fungi memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan uji antagonis. Pengujian aktivitas antibakteri dilanjutkan menggunakan metode mikrodilusi. Aktivitas antibakteri disajikan dalam bentuk persen penghambatan. Hasil uji antibakteri dari tujuh ekstrak konsentrasi 100 µg/mL menunjukkan persen penghambatan tertinggi dari kode IS-PB-A2 ($84,7 \pm 1,4\%$) dan terendah dari kode IS-PB-T2 ($30,5 \pm 3,3\%$). Senyawa yang berperan menghambat pertumbuhan bakteri dalam penelitian ini belum bisa dipastikan sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut.

Kata kunci: Antibakteri; *Pseudomonas aeruginosa*; Fungi Tanah

Abstract: Tracking and Isolation Estuary Soil Fungi in Harbor of Besuki and Screening Antibacterial Activities on *Pseudomonas aeruginosa*. Infectious disease is one of the causes of death worldwide. Inappropriate antibiotic treatment for bacterial infections causes resistance. New antibiotics can be sourced from nature including fungi. This study aims to determine the antibacterial activity of ethyl acetate extract from fermented estuarine yeast against *Pseudomonas aeruginosa*. Isolation of soil fungi using *Potato dextrose Agar* (PDA) media dissolved in sea water. This process resulted in 7 isolates of the fungus which were then called IS-PB-A1, IS-PB-A2, IS-PB-A3, IS-PB-T1, IS-PB-T2, IS-PB-B1, IS-PB-B2. All fungal isolates have the potential to inhibit bacterial growth with antagonistic tests. Antibacterial activity testing was continued using the microdilution method. The antibacterial activity test were performed based on microdilution protocol. The antibacterial activity is presented in the form of percent inhibition. Antibacterial test results from seven extracts of concentration of 100 µg / mL showed the highest inhibitory percent of the IS-PB-A2 code ($84.7 \pm 1.4\%$) and the lowest from the IS-PB-T2 code ($30.5 \pm 3.3\%$). The compounds that play a role in inhibiting bacterial growth in this study cannot be ascertained so further research is needed

Keywords: Antibacterial; *Pseudomonas aeruginosa*; Soil Fungi

1. Pendahuluan

Masalah kesehatan di negara berkembang yang kerap menyebabkan kematian di seluruh dunia salah satunya adalah penyakit infeksi (Mustaqof *et al.*, 2015). *World Health Organization* (WHO) melaporkan bahwa pada tahun 2017 penyakit infeksi menyebabkan 17% dari semua kematian di seluruh dunia terutama balita (WHO, 2017). Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme patogen, seperti virus, bakteri, parasit atau jamur (Nursidika *et al.*, 2014). Antibiotik merupakan salah satu agen untuk memerangi penyakit infeksi yang disebabkan bakteri dengan menghambat sintesis sel, sintesis protein, asam deoksiribonukleat, dan asam ribonukleat (Stuart, 2014). Penggunaan antibiotik yang kurang tepat telah memberikan kontribusi signifikan terhadap munculnya kasus resistensi. Resistensi menyebabkan obat kehilangan kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri sehingga bakteri menjadi “tahan” dan terus berkembang biak. Resistensi tersebut membuat penemuan alternatif antibiotik baru untuk melawan penyakit infeksi akibat bakteri menjadi sangat diperlukan (Zaman *et al.*, 2017). Penemuan antibiotik tersebut dapat bersumber dari fungi tanah seperti *Saccharomyces* sp, *Cryptococcus* sp, *Candida* sp, dan spesies fungi lain dalam tanah.

Penelitian terkini terkait penemuan aktivitas antibakteri yang diisolasi dari fungi dilakukan oleh Wibowo (2017). Penelitian tersebut menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari fungi yang diisolasi dari tanah berasal dari Shah Alam Malaysia terhadap *B. subtilis* dan *E. coli*. Penelitian lain juga dilakukan oleh Anupama *et al.* (2017) yang melaporkan adanya aktivitas antibakteri dari *Candida* sp. yang diisolasi dari tanah terhadap bakteri *Staphylococcus* sp. dan *Bacillus* sp. yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat pada media agar menggunakan metode difusi cakram. Salah satu ekosistem tempat tumbuhnya fungi penghasil antibiotik adalah tanahmuara. Potensi antibakteri fungi tanah yang berasal dari kawasan pantai pasir putih Situbondo Kecamatan Bungatan sebelumnya telah diteliti (Pamungkas, 2021). Berdasarkan letak pengambilan sampel pada penelitian tersebut pada jarak 18,7 km terdapat pelabuhan Besuki. Potensi antibakteri fungi tanah muara di pelabuhan tersebut tidak pernah diteliti sebelumnya.

Muara dicirikan dengan gradien salinitas dalam sistem pesisir semi tertutup yang menghasilkan evolusi sekelompok organisme yang unik dan mampu beradaptasi menggunakan gradien salinitas sebagai keunggulan kompetitif dengan kemampuan osmoregulator yang baik (Elliott & Whitfield, 2011). Fungi tanah mampu mendegradasi selulosa, protein, dan lignin, tahan terhadap kerusakan serta dapat menghancurkan kayu keras yang ada didalam tanah. Fungi menyerap sebagian hasil penguraian tersebut dan melepaskan

bahan-bahan sederhana salah satunya metabolit sekunder untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan. Metabolit sekunder inilah yang kemudian dapat dijadikan sebagai sumber penemuan antibiotik baru. Potensi dari bagian ekosistem muara adalah ekosistem bakau yang mencerminkan hubungan timbal balik antara makhluk hidup dengan lingkungannya dan antar makhluk hidup itu sendiri. Ekosistem bakau menjadi habitat kaya akan bahan organik sebagai pendukung pertumbuhan fungi (Entwistle, 2016).

Bakteri penyebab infeksi secara garis besar si dibagi menjadi dua, yaitu bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif hanya memiliki membran tunggal, sedangkan gram negatif memiliki membran ganda yang terdiri dari lipopolisakarida dan fosfolipid dengan permeabilitas rendah terhadap beberapa senyawa. Hal tersebut menyebabkan gram negatif lebih berbahaya dibanding gram positif (Kramer *et al.*, 2019). Salah satu bakteri gram negatif penyebab infeksi adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Beberapa penelitian di beberapa rumah sakit di Indonesia menyebutkan bahwa penyebab penyakit infeksi terbanyak disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* dengan kejadian sekitar 3,3-30,8% (Taslim & Maskoen, 2016). Resistensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memicu eksplorasi agen antibakteri baru (Maulana *et al.*, 2020).

Penelitian ini bertujuan untuk menelusuri dan mengisolasi fungi dari tanah muara Pelabuhan Besuki Kabupaten Situbondo serta menskrining aktivitas antibakterinya terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Parameter aktivitas antibakteri yang digunakan adalah persentase hambat ekstrak etil asetat fungi tanah menggunakan metode mikrodilusi. Studi terkait identifikasi fungi dan skrining bioaktivitas terhadap pertumbuhan bakteri diharapkan dapat memberikan pengetahuan lebih banyak tentang keanekaragaman fungi serta untuk memberikan informasi potensi penemuan alternatif antibiotik baru.

2. Metode Penelitian

2.1 Alat

Laminar Air Flow (THERMO CIENTIFIC 1300 SERIES A2), *microplate flat bottom 96 wells* (IWAKI), *autoclave* (B-ONE), *microplate reader* (HumaReader HS), *shaker incubator* (B-ONE), neraca analitik (OHAUS), *hot plate* (HEIDOLPH), *vortex* (GENE-2), mikropipet (Socorex & Eppendorf), *centrifuge*, spektrofotometer UV-Vis (GENESYS) dan *chamber kromatografi lapis tipis/KLT* (CAMAG).

2.2 Bahan

Tanah muara dari Pelabuhan Besuki Kabupaten Situbondo, *sterile water for irrigation*, aqua demineralisata (HYDROBATT), air laut, larutan NaCl 0,9%, *Potato Dextrose Agar* (PDA) (HIMEDIA), *Potato Dextrose Broth* (PDB) (HIMEDIA), *Mueller Hinton Agar* (MHA)

(Merck), *Mueller Hinton Broth* (MHB) (HIMEDIA), bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, DMSO (Emsure), CaCl_2 (Sigma), MgCl_2 (Brataco), BaCl_2 , H_2SO_4 , etil asetat teknis, dan gentamisin sulfat.

2.3 Prosedur penelitian

2.3.1 Preparasi media

Media PDA ditimbang sejumlah 1,17g dan dilarutkan dengan aqua demineral sebanyak 250 mL. Media PDB ditimbang sebanyak 3,60g lalu dilarutkan dalam erlenmeyer dengan 150 mL aqua demineralisata. Media MHA ditimbang sebanyak 3,40g, dilarutkan dengan aqua demineralisata 150 mL dalam erlenmeyer. Media MHB ditimbang 1 g dilarutkan dalam 50 mL aqua demineralisata. Media CAMHB dibuat dengan media MHB steril ditambahkan Mg^{2+} dan CaCl_2 steril hingga konsentrasi keduanya berturut-turut 10-12,5 mg/L dan 20-25 mg/L (CLSI, 2012). Penambahan larutan induk Mg^{2+} dan CaCl_2 kedalam 50 mL media MHB steril masing-masing 56 μL untuk Mg^{2+} dan 110 μL untuk CaCl_2 sehingga diperoleh konsentrasi 11,25 mg Mg^{2+}/L dan 22,5 mg CaCl_2/L .

2.3.2 Preparasi sampel tanah, pembiakan dan isolasi fungi

Sampel tanah diambil dari muara Pelabuhan Besuki, Kabupaten Situbondo di sekitar tanaman bakau dengan kedalaman 0-40 cm menggunakan pipa PVC. Sampel dibagi tiga bagian yaitu atas, tengah, dan bawah. 5 cm tanah yang terambil pada bagian atas pipa disebut bagian atas. 5 cm tanah terbawah pada pipa disebut sambel bagian bawah, sedangkan tanah ditengah-tengah pipa disebut bagian tengah. Sampel disuspensikan dengan air steril 10 mL, 2 mL dipipet ke *microtube* lalu disentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 15 menit. Bagian supernatan diambil 100 μL dan dituang pada media PDA. Fungi yang tumbuh setelah inkubasi pada suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 7 hari dipindah berdasarkan morfologi yang berbeda secara visual pada media PDA yang baru kemudian diinkubasi kembali 7 hari pada suhu 28°C .

2.3.3 Identifikasi fungi makroskopis dan mikroskopis

Identifikasi fungi makroskopis dilakukan dengan pengamatan secara visual fungi yang tumbuh pada media PDA. Identifikasi fungi mikroskopis dilakukan dengan menggunakan mikroskop perbesaran 1000x.

2.3.4 Pembuatan suspensi bakteri

Hasil inokulumbakteri uji diambil 1 ose disuspensikan ke dalam tabungreaksi berisi NaCl fisiologis 0,9%, lakukan pengenceran hingga menghasilkan absorbansi sebesar 0,08 - 0,13 pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 625 nm.

2.3.5 Uji antagonis bakteri

Isolat fungi pada media PDA dicetak menggunakan sumuran diambil dengan ose dan dikontakkan dengan bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa*, selanjutnya diinkubasi selama 18 jam pada suhu $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ menggunakan inkubator. Dilakukan pengukuran nilai diameter zona bening menggunakan jangka sorong.

2.3.6 Fermentasi dan ekstraksi fungi tanah

Fermentasi dilakukan menggunakan metode *batch fermentation* dengan memasukkan 5 potong bagian kultur fungi yang dicetak dengan sumuran berdiameter 0,9 cm ke dalam media PDB 150 mL. Campuran keduanya di letakkan pada *shaker incubator* hingga fungi mencapai fase stationer pada hari ke-14. Ekstraksi dilakukan dengan menyaring hasil fermentasi. Hasil saringan media fermentasi ditambah etil asetat 1:1 dan dilakukan partisi cair-cair selama lima belas menit sebanyak 3 kali replikasi. Hasil ekstraksi dengan etil asetat dituang ke dalam mangkok untuk menguapkan pelarut di dalam lemari asam. Setelah pelarut menguap seutuhnya, ekstrak dimasukkan ke dalam vial dan ditimbang bobotnya serta dihitung % rendemennya.

2.3.7 Skrining fitokimia

Skrining fitokimia terhadap ekstrak hasil fermentasi dilakukan guna mengetahui adanya senyawa fenolat dan terpenoid atau steroid. Larutan ekstrak hasil preparasi ditotolkan sebanyak 4 μL pada plat KLT F₂₅₄. Plat KLT tersebut kemudian dieluasi dengan eluen sesuai hasil optimasi. Eluen dianggap optimal ketika menghasilkan pemisahan pada lempeng KLT. Reagen vanilin- H_2SO_4 untuk mendeteksi adanya senyawa fenolat yang ditunjukkan dengan warna merah muda, sedangkan untuk terpenoid dapat dideteksi jika ditemukan noda berwarna merah keunguan pada lempeng KLT setelah dilakukan pemanasan pada *hot plate* (Sharifa *et al*, 2012).

2.3.8 Uji aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri fungi tanah dilakukan dengan metode mikrodilusi konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ yang mengacu pada protokol standar CLSI M100-S25 (CLSI, 2017). Penentuan aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat fungi tanah dilakukan dengan metode mikrodilusi. Suspensi bakteri dalam media CAMHB (1×10^8 CFU/mL) diencerkan 100 kali menggunakan media CAMHB hingga konsentrasi bakteri menjadi 1×10^6 CFU/mL. Setiap sumuran berisi 50 μL suspensi bakteri dalam media CAMHB. Penambahan larutan kontrol positif, kontrol negatif, dan larutan uji masing-masing sebanyak 50 μL . Konsentrasi akhir bakteri dalam tiap sumuran 5×10^4 CFU. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat fungi tanah terdiri dari campuran 50 μL larutan ekstrak dalam DMSO 1% dan 50 μL bakteri (5×10^4 CFU/mL) dalam media CAMHB. Kontrol ekstrak terdiri dari campuran 50 μL larutan ekstrak

etil asetat konsentrasi 100 µg/mL dalam DMSO 1% dan 50µL media CAMHB. Kontrol negatif ekstrak terdiri dari campuran 50 µL DMSO 1% dalam media CAMHB dan 50 µL bakteri dalam media CAMHB. Kontrol DMSO 1% yaitu campuran 50 µL DMSO 1% dalam media CAMHB dan 50µL media CAMHB. Kontrol positif terdiri dari 50 µL campuran gentamisin konsentrasi 1 µg/mL dan 50 µL bakteri dalam media CAMHB. Kontrol gentamisin terdiri dari campuran 50µL gentamisin konsentrasi 1 µg/mL dan 50 µL media CAMHB. Campuran media CAMHB 50µL dan bakteri 50µL menjadi kontrol negatif gentamisin, sedangkan media CAMHB 100 µL merupakan kontrol media. Semua prosedur uji aktivitas antibakteri dilakukan dalam kondisi aseptis.

2.3.9 Analisis data

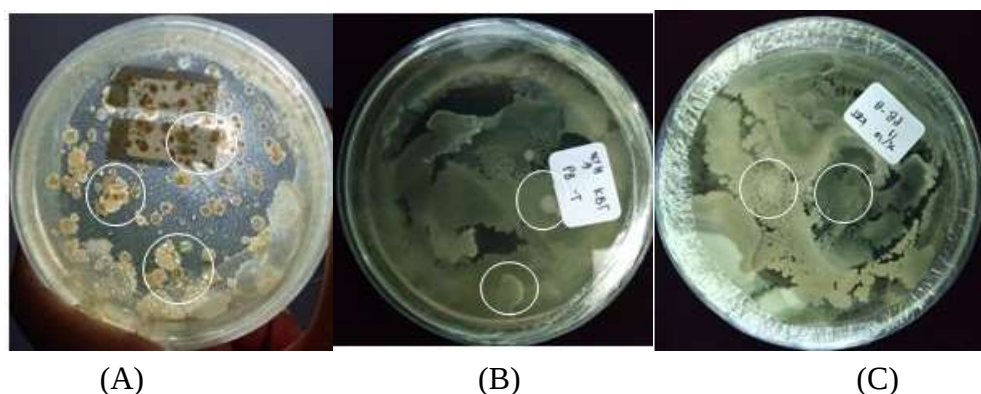
Persentase pertumbuhan bakteri dihitung berdasarkan rumus persamaan 1 (Queve *et al.*, 2008).

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

Persamaan 1. Persentase pertumbuhan bakteri. Keterangan: Absorbansi (Abs), Kontrol DMSO 1% atau media CAMHB (A), Kontrol DMSO 1% atau media CAMHB (B), Larutan uji ekstrak/gentamisin (C) dan Kontrol ekstrak/gentamisin (D).

3. Hasil dan Pembahasan

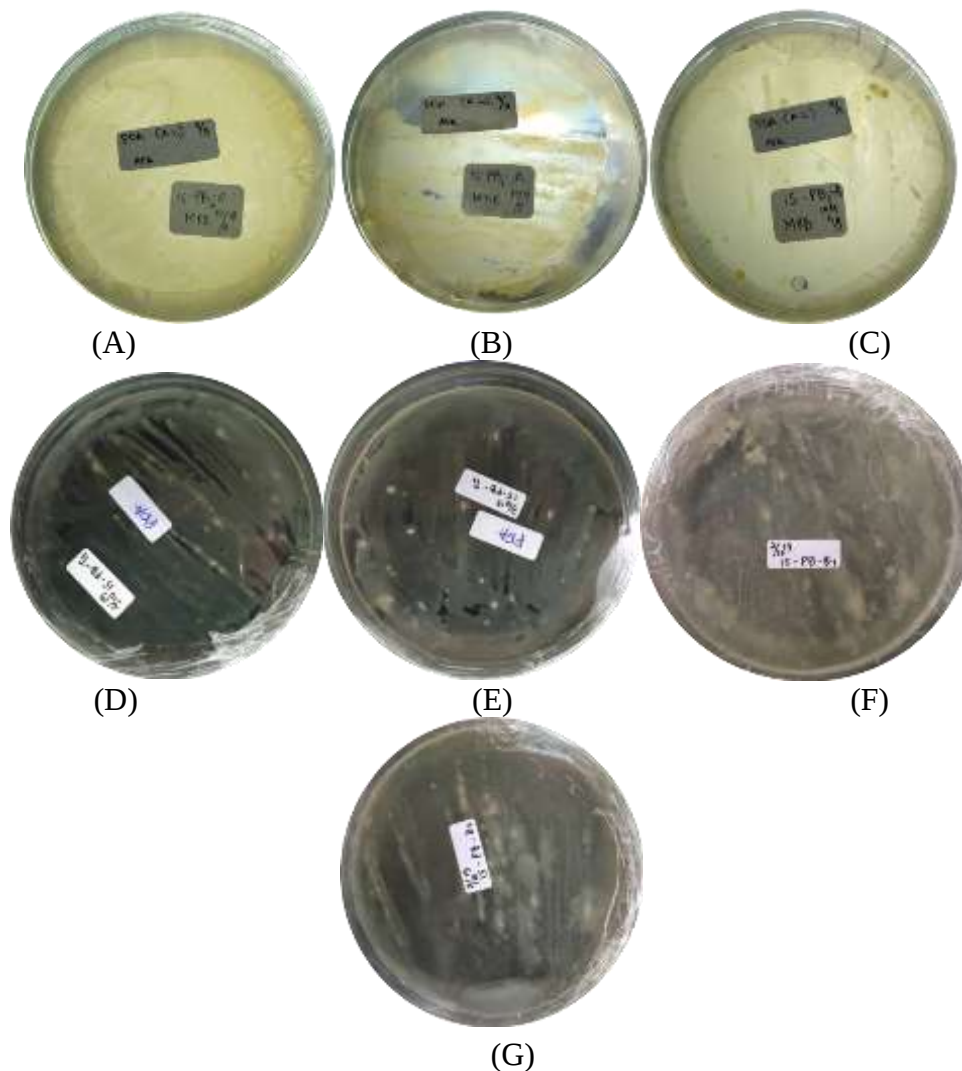
3.1 Pembiakan dan Isolasi Fungi Tanah



Gambar 1. Hasil kultur fungi yang berasal dari tanah muara dari pelabuhan Besuki Kabupaten Situbondo selama 7 hari pada media PDA-air laut. Sampel berasal dari tiga bagian tanah yang terambil pada pipa: (A) bagian tanah teratas yang terambil pada pipa, (B) bagian tanah yang terambil pada tengah pipa, (C) bagian tanah terbawah bawah yang terambil pada pipa.

Sampel yang berhasil dikumpulkan dibagi 3 bagian yaitu atas, tengah, dan bawah untuk melihat kemungkinan jenis fungi berbeda di setiap bagian tanah. Hasil pengamatan visual morfologi fungi hasil kultur didapatkan 2 sampai 3 perbedaan dari sampel tanah atas, tengah, dan bawah yang disajikan pada Gambar 1. Hasil isolasi fungi tanah secara makroskopis pada 7 isolat fungi berumur 7 hari ditunjukkan pada Gambar 2. Masing-masing isolate tersebut

kemudian disebut dengan IS-PB-A1, IS-PB-A2, dan IS-PB-A3 untuk sampel tanah bagian atas, IS-PB-T1 dan IS-PB-T2 untuk sampel tanah bagian tengah, IS-PB-B1 dan IS-PB-B2 untuk sampel tanah bagian bawah.



Gambar 2. Hasil isolasi fungi tanah pada media PDA-air laut. Sampel berasal dari tiga bagian tanah yang terambil pada pipa: kode A1, A2 dan A3 untuk bagian tanah atas yang terambil pada pipa, kode T1 dan T2 untuk bagian tanah yang diambil dibagian tengah pipa, B1 dan B2 untuk bagian tanah terbawah yang terambil pada pipa. (A) IS-PB-A1, (B) IS-PB-A2, (C) IS-PB-A3, (D) IS-PB-T1, (E) IS-PB-T2, (F) IS-PB-B1, (G) IS-PB-B2.

Penambahan air laut pada proses pembiakan diharapkan dapat membuat pertumbuhan fungi menjadi lebih optimum sesuai proses optimasi media pada penelitian Pamungkas (2021). Proses isolasi bertujuan untuk memisahkan fungi tanah dari mikroorganisme lain yang tidak dibutuhkan dalam penelitian agar menghasilkan biakan fungi murni. Hasil isolasi tersebut diidentifikasi makroskopis dan mikroskopis untuk memastikan jenis fungi yang tumbuh. Jenis fungi kapang biasanya memiliki warna yang bervariasi dan terdapat hifa sebagai alat

reproduksi vegetatif sebagai ciri khasnya, sedangkan jenis fungi khamir tumbuh dengan morfologi menyerupai koloni bakteri (Campbell *et al.*, 2003).

3.2 Identifikasi makroskopis dan mikroskopis

Hasil isolasi fungi tanah masing-masing diamati secara visual untuk menentukan jenis fungi yang dihasilkan. Rincian morfologi hasil kultur fungi yang diamati secara makroskopis ditunjukkan pada Tabel 1, sedangkan morfologi hasil isolasi fungi secara makroskopis disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Morfologi hasil kultur fungi tanah berumur 7 hari pada media PDA-air laut secara makroskopis. (A) sampel tanah teratas yang terambil pada pipa, (T) sampel tanah yang terambil dibagian tengah pipa, (B) sampel tanah terbawah yang terambil pada pipa.

Kode Sampel	Karakteristik makroskopis	
	Warna	Tekstur
IS-PB-A	Putihkecoklatan, buram, kusam	Halus, kental dan licin
IS-PB-T	Putih krem, buram, kusam	Halus, kental
IS-PB-B	Putih krem, buram, kusam	Halus, kental

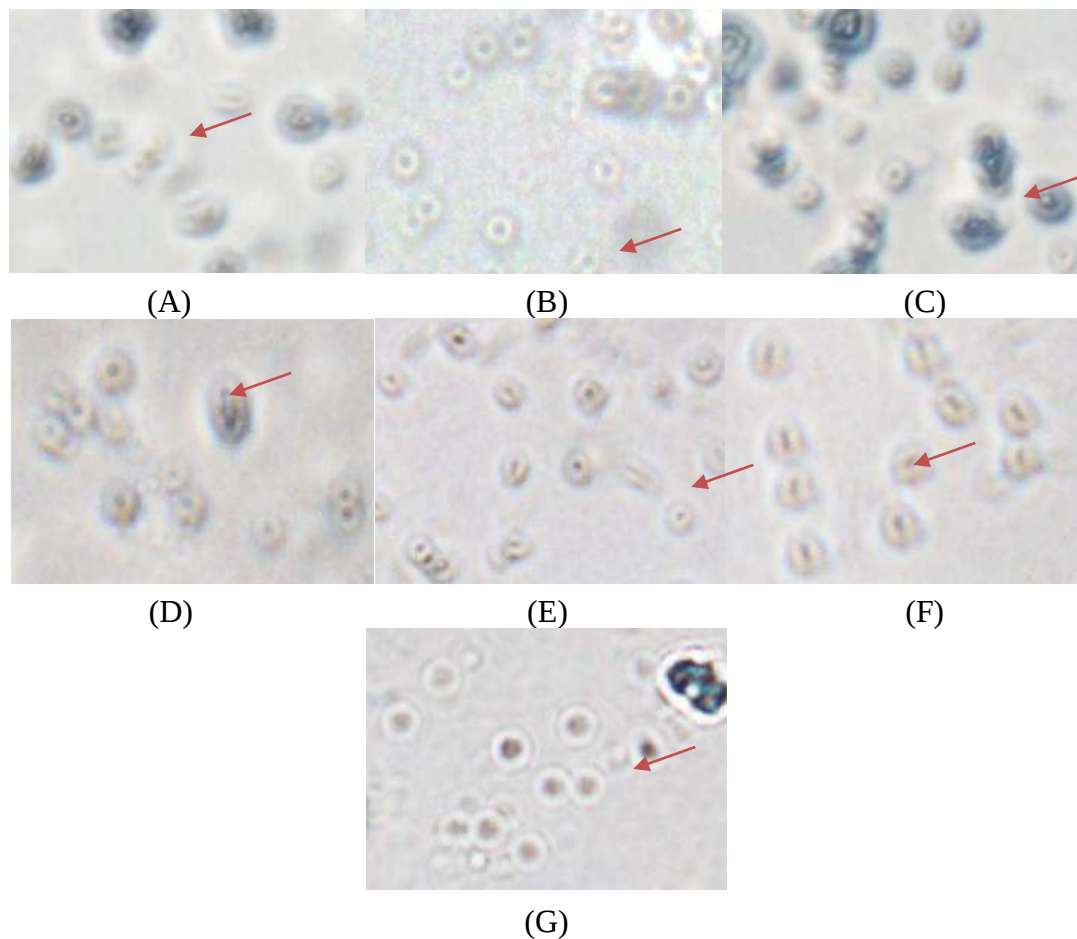
Hasil kultur fungi dari bagian tanah atas, tengah, dan bawah cenderung memiliki warna putih krem atau kekuningan, buram dan kusam serta bertekstur halus dan kental (Tabel 2). Hasil isolasi fungi selanjutnya disimpan dalam suhu $10\pm 2^{\circ}\text{C}$ dengan tujuan memperlambat pertumbuhan fungi untuk penyimpanan lebih lama. Pengamatan morfologi sel bertujuan untuk mengetahui bentuk dan ada tidaknya hifa atau pseudohifa. Fungi khamir dibawah mikroskop menyerupai koloni bakteri dengan bentuk oval atau telur, tetapi beberapa ada yang berbentuk bulat. Sebagian besar sel khamir memiliki ukuran lebih besar dibandingkan bakteri, tetapi khamir yang terkecil tidak sebesar bakteri yang terbesar (Volk & Wheeker, 1971).

Tabel 2. Morfologi hasil isolasi fungi pada media PDA-air laut. Sampel berasal dari tiga bagian tanah yang terambil pada pipa: kode A1, A2 dan A3 untuk bagian tanah atas yang terambil pada pipa, kode T1 dan T2 untuk bagian tanah yang diambil dibagian tengah pipa, B1 dan B2 untuk bagian tanah terbawah yang terambil pada pipa.

Kode Sampel	Karakteristik makroskopis	
	Warna	Tekstur
IS-PB-A1	Putih kekuningan, buram, kusam	Halus, kental bermembran
IS-PB-A2	Putih kekuningan, buram, kusam	Halus, kental bermembran
IS-PB-A3	Putih kekuningan, buram, kusam	Halus, kental bermembran
IS-PB-T1	Putih krem, buram, kusam,	Halus, kental
IS-PB-T2	Putih krem, buram, kusam,	Halus, kental
IS-PB-B1	Putih krem, buram, kusam,	Halus, kental
IS-PB-B2	Putih krem, buram, kusam,	Halus, kental

Selain pengamatan secara makroskopis, fungi tanah diidentifikasi menggunakan mikroskop untuk memastikan kembali jenis fungi yang dihasilkan melalui pengamatan morfologi sel fungi. Fungi tanah diamati dibawah mikroskop perbesaran 1000x. Pengamatan

secara mikroskopis dilakukan terhadap semua hasil isolasi fungi tanah atas, tengah dan bawah dengan hasil disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengamatan bentuk sel fungi khamir sampel fungi tanah, perbesaran 1000x, *scale bar* 20 μm (A) IS-PB-A1 bulat, (B) IS-PB-A2 bulat, (C) IS-PB-A3 bulat, (D) IS-PB-T1 bulat, (E) IS-PB-T2 bulat, (F) IS-PB-B1 oval, (G) IS-PB-B2 bulat.

Data hasil pengamatan secara mikroskopis menunjukkan bahwa fungi yang tumbuh dalam media adalah jenis khamir karena memiliki inti sel berbentuk bulat atau oval. Tanah mengandung banyak komponen termasuk fungi dan bakteri yang memiliki bentuk hampir sama yaitu bulat. Bakteri yang sering terkandung di dalam tanah yakni aktinomisetes. Aktinomisetes merupakan sel prokariotik tak berinti sel, sedangkan fungi jenis khamir dapat dilihat dari ada tidaknya inti sel (Pepper & Gentry, 2015). Berdasarkan karakteristik tersebut diduga fungi khamir yang berhasil diisolasi dalam penelitian ini termasuk ke dalam spesies *Saccharomyces sp*, namun pemastian jenis spesies khamir dalam setiap kode sampel belum bisa ditentukan. Identifikasi fungi lebih lanjut diperlukan untuk memastikan spesies khamir. Selain itu untuk mempermudah identifikasi fungi perlu dilakukan pemurnian kembali berdasarkan perbedaan morfologi fungi secara makroskopis agar diperoleh biakan fungi murni mengandung satu spesies dalam satu *plate*.

3.3 Skrining awal fungi tanah

Skrining awal atau uji antagonis bakteri dilakukan untuk menyeleksi isolat fungi yang mampu menghasilkan daya hambat terhadap pertumbuhan *P.aeruginosa* dengan data disajikan pada Tabel 3. Proses uji antagonis menggunakan metode difusi agar dengan hasil berupa diameter zona hambat. Zona hambat tersebut berupa zona bening yang nampak di sekeliling fungi. Warna bening tersebut menandakan adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam fungi.

Tabel 3. Diameter zona hambat sampel hasil isolasi, serta berat dan rendemen ekstrak (%b/v) hasil fermentasi dengan kode IS-PB-A1, IS-PB-A2, IS-PB-A3, IS-PB-T1, IS-PB-T2, IS-PB-B1, IS-PB-B2.

Kode sampel	Diameter zona hambat (mm)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%b/v)
IS-PB-A1	12,2	0,259	0,142
IS-PB-A2	11,5	0,147	0,080
IS-PB-A3	12,2	0,139	0,764
IS-PB-T1	9,7	0,274	0,151
IS-PB-T2	13,6	0,009	0,005
IS-PB-B1	11,9	0,092	0,051
IS-PB-B2	11,5	0,066	0,037

Uji antagonis dengan kontak langsung antara bakteri dan fungi tanah untuk mengetahui potensi awal isolat fungi dalam menghambat pertumbuhan bakteri sebelumnya telah dilakukan oleh Wibowo *et al* (2017) dengan mengamati diameter zona hambat yang dihasilkan di sekitar fungi. Senyawa aktif yang disekresi fungi akan menyebar pada media agar yang telah diberi bakteri uji, sehingga bakteri uji pertumbuhannya akan terhambat jika berinteraksi dengan senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakteri sehingga menyebabkan terbentuknya zona bening (Mu'azzam *et al.*, 2015). Zona hambat yang diperoleh dari kode sampel IS-PB-B1 diduga bisa karena menunjukkan zona yang tidak bening sempurna atau buram. Hal tersebut dapat disebabkan karena perkembangan fungi dan ketebalan fungi yang dikontakkan terhadap bakteri. Selain itu zona hambat yang berbeda pada masing-masing kode sampel dapat disebabkan oleh kemungkinan perbedaan kandungan fungi dalam setiap hasil isolasi fungi tanah. Setiap fungi memiliki kemampuan berbeda-beda dalam menghasilkan metabolit sekunder yang diduga sebagai bioaktif untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Calvo *et al.*, 2002).

3.4 Fermentasi dan ekstraksi fungi tanah

Fermentasi dilakukan untuk memperbanyak kultur massa fungi tanah sehingga diperoleh produk metabolit primer dan sekunder lebih banyak. Proses pembentukan metabolit sekunder ditandai dengan perubahan warna media PDB seiring bertambahnya waktu fermentasi. Mayoritas senyawa aktif dari fungi tanah merupakan metabolit sekunder yang

diperoleh melalui proses fermentasi, dimana produksinya terjadi pada fase stasioner. Pada fase ini pertumbuhan fungi memasuki fase stagnan sehingga akumulasi produk fermentasi dan menipisnya nutrisi dapat mengubah kondisi dan keseimbangan mikrobiota dalam fermentor untuk waktu yang lebih lama. Jumlah nutrisi medium yang cenderung menipis memungkinkan sel fungi mempunyai komposisi dan menghasilkan bioproduk yang berguna untuk kelangsungan hidup fungi tanah atau metabolit sekunder (Fengxue *et al.*, 2019). Proses fermentasi dilakukan hingga hari ke-14 karena di hari tersebut fungi mencapai pertumbuhan optimum dan berada dalam fase stasioner. Pada fase stationer populasi sel fungi tetap karena jumlah sel fungi yang tumbuh sebanding dengan jumlah sel fungi yang mati disebabkan oleh menipisnya nutrisi yang ada di dalam media (Jain & Pundir, 2011). Hasil fermentasi diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat 1:1. Proses ekstraksi tersebut menunjukkan perolehan rendemen yang disajikan pada Tabel 3.

Data rendemen ekstrak menunjukkan sampel kode FE-PB-A3 memiliki nilai rendemen terbesar (0,764%b/v), sedangkan rendemen terkecil diperoleh dari sampel kode FE-PB-T2 (0,005%b/v). Ekstrak FE-PB-T2 memiliki rendemen terendah dimungkinkan karena kandungan senyawa yang tersari oleh etil asetat dalam ekstrak lebih sedikit dibandingkan dengan sampel lainnya. Perbedaan nilai rendemen yang didapat dipengaruhi oleh kemungkinan perbedaan spesies fungi yang terkandung dalam setiap sampel. Spesies fungi yang berbeda memiliki adaptasi terhadap lingkungan yang berbeda pula. Media PDA air laut yang digunakan diduga mempengaruhi pertumbuhan fungi dalam setiap sampel. Kandungan NaCl yang lebih tinggi di dalam air laut menyebabkan tidak semua fungi dapat tumbuh, hanya fungi yang mampu beradaptasi dengan salinitas tinggi yang dapat terus tumbuh dan menghasilkan metabolit sekunder (Sepcic *et al.*, 2011). Selain itu kemungkinan perbedaan spesies fungi juga menyebabkan perbedaan perkembangan sel dan perbedaan kemampuan untuk biosintesis metabolit sekunder (Calvo *et al.*, 2002).

3.5 Skrining fitokimia

Nagwa *et al* (2018) melaporkan isolat fungi tanah yang diambil dari tanah rizosfer memiliki aktivitas antibakteri dengan kandungan terpenoid sebesar 38,34%. Terpenoid merupakan senyawa yang mampu bertindak sebagai antibakteri dengan mengganggu membran lipid sehingga menyebabkan kebocoran dari liposom (Mujeeb & Oathak, 2014). Berdasarkan hasil penelitian sampel tanah Wonorejo Surabaya oleh Arisanti *et al* (2012), didapatkan bahwa fungi khamir yang berhasil diisolasi mengandung senyawa fenolat yang memiliki aktivitas antibakteri. Fenolat merupakan golongan senyawa yang mampu mendenaturasi protein dinding maupun membran sel bakteri. Skrining fitokimia yang

dilakukan pada ekstrak hasil fermentasi fungi tanah muara ini dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dan prinsip penampak noda yang sesuai. Fase gerak yang digunakan yaitu diklorometana : metanol (9:1). Eluen tersebut dipakai untuk mendeteksi kemungkinan golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak hasil fermentasi. Berdasarkan hal tersebut kondisi analisis yang didapat yaitu fase diam silika gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak diklorometan : metanol (9:1) dengan penampak noda sesuai dengan golongan senyawa yang diuji.

Hasil penelitian yang diperoleh semua sampel negatif mengandung fenolat, namun positif terhadap uji kandungan terpenoid. Hal tersebut menunjukkan fungi tanah dalam penelitian ini mengandung senyawa golongan terpenoid yang berpotensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Savitri *et al*, 2020). Skrining fitokimia lebih lanjut kemudian diperlukan untuk menentukan senyawa aktif yang berperan besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa yang memiliki peran besar dalam menghambat aktivitas antibakteri dapat diidentifikasi kembali dengan *profiling* menggunakan HPLC (Sundari, 2010).

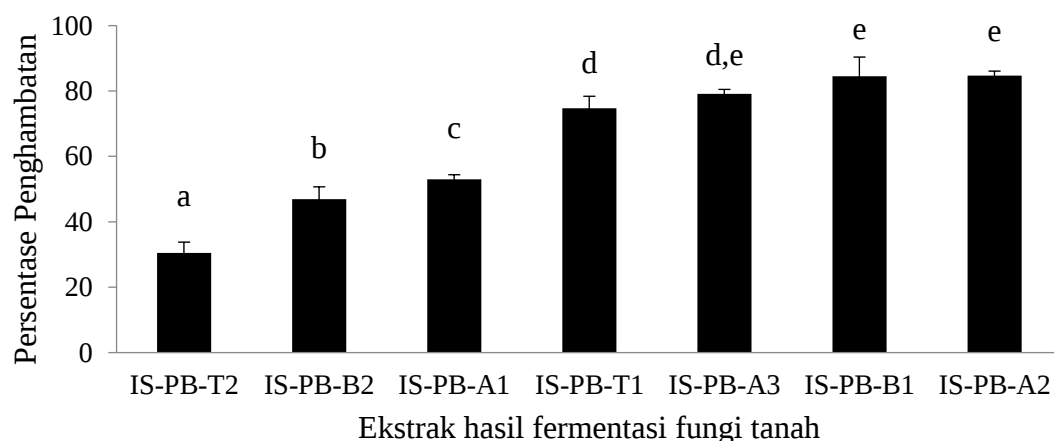
3.6 Uji aktivitas antibakteri

Ekstrak etil asetat fungi tanah muara dari 7 hasil isolasi khamir diuji aktivitas antibakterinya terhadap *P. aeruginosa* menggunakan metode mikrodilusi cair konsentrasi tunggal 100 µg/mL. Perolehan nilai persentase penghambatan disajikan pada Gambar 4.

Data persen penghambatan menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat fungi tanah muara memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. aeruginosa*. Kode sampel IS-PB-A2 menunjukkan nilai persen penghambatan tertinggi ($84,7 \pm 1,4\%$) sedangkan nilai persen penghambatan terendah dihasilkan oleh sampel dengan kode IS-PB-T2 ($30,5 \pm 3,3\%$). Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini bertujuan untuk menentukan persentase penghambatan bakteri dengan berpedoman pada standar yang ditetapkan oleh CLSI. Media yang direkomendasikan oleh CLSI untuk pengujian mikrodilusi adalah CAMHB. CAMHB merupakan media yang dibuat dengan penambahan ion Mg^{2+} dan Ca^{2+} ke dalam media MHB. Konsentrasi kation divalen seperti Mg^{2+} dan Ca^{2+} merupakan variabel penting yang perlu diperhatikan karena berpengaruh terhadap kestabilan dinding sel bakteri yang berakibat pada berkurangnya pengikatan gentamisin terhadap *P. aeruginosa*. Media MHB yang ditambah dengan kation akan menghasilkan MIC gentamisin ± 32 kali lipat lebih tinggi dibandingkan pada media MHB tanpa penambahan kation (Fass & Bernishan, 1979).

Uji aktivitas dalam penelitian ini dilakukan terhadap ekstrak hasil fermentasi fungi tanah yang diduga mengandung terpenoid. Semakin besar kandungan senyawa terpenoid dalam ekstrak dimungkinkan potensi hambatan terhadap bakteri akan lebih besar. Proses ini

dapat terjadi karena senyawa terpenoid menyebabkan kebocoran liposom pada bakteri yang dapat mengganggu pembentukan membran lipid bakteri *P.aeruginosa* sebagai bakteri uji (Mujeeb & Oathak, 2014) Hal tersebut ditunjukkan oleh hasil skrining fitokimia yang diperoleh. Perbedaan nilai persen penghambatan yang diperoleh dari metode mikrodilusi menggunakan ekstrak fungi dengan hasil uji antagonis menggunakan hasil isolasi fungi dapat dipengaruhi oleh laju pembentukan metabolit sekunder yang berbeda pada tiap fungi. Dimungkinkan jenis fungi yang terkandung dalam ekstrak tersebut memiliki spesies yang berbeda-beda. Setiap spesies fungi memiliki kemampuan berbeda-beda dalam membentuk metabolit sekunder. Pembentukan metabolit sekunder dapat dipengaruhi beberapa faktor. Faktor yang berpengaruh seperti diferensiasi atau perkembangan sel, pengaruh sejumlah faktor eksternal (media pertumbuhan) dan internal (transduksi sinyal yang mengatur biosintesis produk alami), reaksi enzimatik sekuensial yang diperlukan untuk mengubah *building blocks* primer menjadi produk alami, regulasi ekspresi gen enzimatik produk alami oleh satu atau lebih aktivator transkripsional, biosintesis produk alami dengan metabolisme primer (Calvo *et al.*, 2002).



Gambar 4. Diagram persentase penghambatan pertumbuhan bakteri *P.aeruginosa* oleh ekstrak fungi tanah muara dari yang terkecil hingga terbesar. Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan ($p > 0,05$) antar kelompok uji. Data ditransformasi dengan Ln dan dianalisis menggunakan ANOVA.

Penelitian sebelumnya menunjukkan banyak fungi yang diisolasi dari tanah memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri (Pamungkas *et al.*, 2021). Ekstrak kode IS-PB-A2 menjadi isolat yang paling potensial karena memiliki nilai persen penghambatan tertinggi dibandingkan dengan isolat lainnya, yaitu sebesar $84,7 \pm 1,4\%$ dengan konsentrasi uji $100 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan nilai persen penghambatan dan data analisis statistik persen penghambatan kode sampel IS-PB-A2 ($84,7 \pm 1,4\%$) dengan IS-PB-B1 ($84,5 \pm 5,9\%$) dan IS-PB-A3 ($79,1 \pm 1,4\%$) dengan IS-PB-T1 ($74,7 \pm 3,7\%$) didapatkan hasil yang tidak berbeda

signifikan ($p > 0,05$). Hal tersebut dimungkinkan sampel dengan kode IS-PB-A2 dan IS-PB-B1 memiliki jenis fungi atau kandungan senyawa bioaktif yang sama sehingga menunjukkan hasil tidak berbeda signifikan, begitu pula dengan sampel kode IS-PB-A3 dan IS-PB-T1. Pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan sampel ekstrak fungi tanah yang diisolasi dari tanah muara Pelabuhan Besuki Situbondo dapat dinyatakan memiliki aktivitas antibakteri, namun belum bisa disimpulkan aktivitasnya karena dibutuhkan penelitian lebih lanjut terkait nilai MIC dari masing-masing sampel.

4. Kesimpulan

Tujuh hasil isolasi fungi berhasil didapatkan termasuk dalam jenis khamir dengan kode sampel IS-PB-A1, IS-PB-A2, IS-PB-A3, IS-PB-T1, IS-PB-T2, IS-PB-B1, dan IS-PB-B2. Semua hasil isolasi fungi tanah tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P.aeruginosa*. Uji aktivitas antibakteri dengan konsentrasi tunggal ekstrak etil asetat hasil fermentasi fungi tanah terhadap *P.aeruginosa* menghasilkan persen penghambatan IS-PB-A1 $53,0 \pm 1,4\%$, IS-PB-A2 $84,7 \pm 1,4\%$, IS-PB-A3 $79,1 \pm 1,4\%$, IS-PB-T1 $74,7 \pm 3,7\%$, IS-PB-T2 $30,5 \pm 3,3\%$, IS-PB-B1 $84,5 \pm 5,9\%$, IS-PB-B2 $46,9 \pm 3,8\%$.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Drug Utilisation and Discovery Research Groups (DUDRG) Fakultas Farmasi Universitas Jember atas dukungan fasilitas penelitian.

Deklarasi Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

Daftar Pustaka

- Anupama, B., C. Sonia, and K. Kamalpreet. (2017). Production of antibacterial agent from fungi isolated from park soil sample by fermentation under optimized condition. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 8(1): pp.70–77.
- Arisanti, S., Kwintasari, N., and Maya, S. (2012). Antimicrobial Assay of Soil Mold Isolates from Wonorejo Surabaya. *The Journal for Technology and Science*, 23(4): pp. 111-117
- Calvo, A. M., Wilson, R. A., Bok J. W., dan Keller, N. P. (2002). Relationship between Secondary Metabolism and Fungal Development. *Microbiology and Molecular Biology Review*, 66(3): pp. 447.
- Campbell, N., Reece, J. B., and Mitchell, L. (2003). *Biologi Jilid 2*. Jakarta: Erlangga.
- Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). (ss2012). *Method for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standart – Ninth Edition*. CLSI Document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute
- Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). (2017). *Performance Standarts for Antimicrobial Susceptibility Testing, 27 Edition*. Wayne: CLSI supplement M100-S20. USA
- Elliott, M., and Whitfield, A.K. (2011). Challenging paradigms in estuarine ecology and management. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 94(4): pp.306–314.
- Entwistle, E. M. (2018). Anthropogenic Nitrogen Deposition and Decomposer Fungi: Altered Composition and Function Fosters Greater Soil Carbon Storage. *Applied and*

- Environmental Microbiology*, 84(9): pp. 63-123
- Fass, R. J., and Bernishan, J. (1979). Effect of Divalent Cation Concentrations on the Antibiotic Susceptibility of Nonfermenters Other than *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 16(4):pp.434–438.
- Fengxue, X., Dong, Welliang, Dai, Z. D., Jiang, Y., Yan, W., Lv, Z., Fang, Y., and Jiang, M. (2019). Biosynthetic Technology and Bioprocess Engineering. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. pp. 207–232. USA, Elsevier. DOI:10.1016/B978-0-444-64085-7.00009-5
- Jain, P., and Pundir, R. (2011). Effect of fermentation medium, pH and temperature variations on antibacterial soil fungal metabolite production. *Journal of Agricultural Technology*, 7(2): pp. 247–269.
- Maulana, I.A., Triatmoko B., Nugraha, A.S.N., 2020. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Tanaman Senggugu (*Rotheca serrata* (L.) Steane & Mabb.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research (JPSCR)*, 5(1): pp. 01-11. 10.20961/jpscr.v5i1.32200
- Mu'azzam, K. A. A., Taufiq, M., Azlina, N. I., Noorahzira, S., and Darah, I. (2015). Screening of antibacterial activity of endophytic fungi isolated from different leaf age of *Curcuma mangga* using different growth media. *International Journal of Research In Medical and Health Sciences*, 4(9): pp. 24-28
- Mujeeb, F. B. P., and Oathak, N. (2014). Phytochemical evaluation, antimicrobial activity, and determination of bioactive components from leaves of *Aegle marmelos*. *BioMed Research International*, 13(52):pp.791-800.
- Mustaqof, A., Wiharto, and Suryani, E. (2015). Sistem Pakar untuk Mendiagnosis Penyakit Infeksi Menggunakan Forward Chaining. *Jurnal ITSMART*, 4(1): pp.43-47.
- Nagwa, E. A., Kassem, H. A., Hamed, M. A., El-Feky, A. M., Elnaggar, M. A. A., Mahmoud, K., and Ali, M. A. (2018). Isolation and characterization of the bioactive metabolites from the soil derived fungus *Trichoderma viride*. *Journal of Fungi Biology*, 9(1): pp.70–80.
- Nursidika, P., Opstari, S., and Nurul, R. (2014). Aktivitas Antimikrob Fraksi Ekstrak Etanol Buah Pinang (*Areca catechu* L) pada Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. *Majalah Kedokteran Bandung*, 46(2):pp.94–99.
- Pamungkas, F.B, Triatmoko, B., and Nugraha, A. S. 2021. Penelusuran Dan Isolasi Fungi Tanah Kabupaten Situbondo Serta Skrining Aktivitas Antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Universitas Jember. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 19(1): pp. 73-79.
- Pepper, I. L., and Gentry, T. (2015). Earth Environment, 3rd edition. *Environmental microbiology*, pp. 59–88. USA, Elsevier.
- Queve, C. L., Plano, R. W., Pantuso, T., and Barnett, B. C. (2008). Effect of extracts from Italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm, formation and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal Of Ethnopharmacology*, 118(3): p.418–428.
- Savitri, G. R., Triatmoko. B., and Nugraha. A. S. 2020. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Tumbuhan Anyang-Anyang (*Elaeocarpus grandiflorus* J. E. Smith.) terhadap *Escherichia coli*. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research (JPSCR)*. 5(1): pp. 22-32. 10.20961/jpscr.v5i1.32206
- Stuart B. L. (2014). *The antimicrobial paradox: How miracle drugs are destroying the miracle*. New York: Plenum Press.
- Sepcic, K., Zalar, P., and Gunde-Cimerman, N. (2011). Low Water Activity Induces the Production of Bioactive Metabolites in Halophilic and Halotolerant Fungi. *Marine Drugs*, 9(1): pp. 43–58.
- Sharifa, A. A., Jamaludin, J., Kiong, L. S., Chia, L. A., and Osman, K. 2012. Anti-Urolithiatic Terpenoid Compound from Malaysiana, 41(1): pp.33-39

- Sundari, I. (2010). Identifikasi Senyawa dalam Ekstrak Etanol Biji Buah Merah *IDENTIFIKASI (Pandanus conoideus Lamk.)*. Skripsi: Universitas Sebelas Maret, Surakarta
- Taslim, E. T. and T. T. Maskoen. 2016. Pola kuman terbanyak sebagai agen penyebab infeksi di intensive unit pada beberapa rumah sakit di indonesia. *Anesthesia & Critical Care*.34(1): pp.56–62.
- Volk, W., and Wheeker, M. (1971). *Basic Microbiology 6th edition*. Harper & Row Publisher.
- WHO. (2017). Indonesia : Who Statistical Profile. World Health Organization on Behalf of the Special Progre for Research and Training in Tropical Diseases. Available from: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1081066/retrieve> [Accessed 31 January 2020]
- Wibowo, M., Julianti, E., and Muhammad, R. (2017). Isolation and Antibacterial of Soil-derived Fungi from Taman Botani Negara Shah Alam Malaysia. *Acta Pharmaceutica Indonesia*, 42(1): pp. 18-24.
- Zaman, S., Hossain, N., and Yasir Arafat, S. (2017). Management of newborn infection: Knowledge and attitude among health care providers of selected sub-district hospitals in Bangladesh. *IJPPH*, 1(2):pp.127–132.



© 2021 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).



Faktor Risiko Musculoskeletal Pain pada Pasien Chronic Myeloid Leukemia (CML) dengan Kemoterapi Nilotinib di RSUD Dr. Moewardi

Rasmaya Niruri^{1*}, Eti Poncorini Pamungkasari² dan Syifa Maulida Rahmah¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta, Indonesia, 57126

²Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta, Indonesia, 57126

*email korespondensi: rasmaya@staff.uns.ac.id

Received 27 August 2020, Accepted 10 March 2021, Published 15 July 2021

Abstrak: *Chronic Myeloid Leukemia* (CML) merupakan penyakit mieloproliferatif yang ditandai dengan peningkatan sel mieloid dan ditemukan adanya kromosom Philadelphia yang disebabkan karena adanya translokasi respirok gen *BCR-ABL*. Nilotinib adalah *Tyrosine Kinase Inhibitor* (TKI) yang disetujui untuk pengobatan pasien dewasa yang baru di diagnosis CML dalam fase kronis (CML-CP) dengan kromosom Philadelphia positif (Ph+) atau pasien Ph+ CML yang resisten atau tidak toleran terhadap imatinib dalam fase kronis (CP) atau fase dipercepat (AP). Pada beberapa studi menunjukkan bahwa nilotinib berkaitan dengan munculnya efek samping obat. Salah satu efek samping obat yang terjadi pada penggunaan nilotinib yaitu *musculoskeletal pain*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui frekuensi terjadinya *musculoskeletal pain* dan menganalisis pengaruh faktor usia, Indeks Masa Tubuh (IMT), dan riwayat Diabetes Mellitus (DM) pada pasien CML dengan kemoterapi nilotinib di RSUD Dr. Moewardi. Penelitian dilakukan sebagai studi observasional dengan desain *cross sectional* pada 35 subyek pasien CML dengan kemoterapi nilotinib pada bulan Januari 2016 – Maret 2019. Evaluasi dilakukan selama 1 tahun setelah subyek mendapatkan kemoterapi nilotinib dengan menggunakan rekam medis dan lembar pengumpul data. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa 13 pasien (37,1%) mengalami *musculoskeletal pain*. Hasil evaluasi dengan Algoritma Naranjo yaitu 7 pasien masuk dalam kategori *possible* dan 6 pasien dalam kategori *probable*. Indeks Masa Tubuh (IMT) berpengaruh secara signifikan terhadap terjadinya *musculoskeletal pain* dengan nilai *p* sebesar 0,041, nilai *Odds Ratio* sebesar 7, dan Interval Kepercayaan 95% sebesar 1,09 – 45,16. Sedangkan, faktor usia dan riwayat DM tidak berpengaruh secara signifikan terhadap terjadinya *musculoskeletal pain*.

Kata kunci: CML; TKI; Nilotinib; *Musculoskeletal Pain*

Abstract: **Risk factors of musculoskeletal pain in Chronic Myeloid Leukemia (CML) patients with nilotinib chemotherapy in RSUD Dr. Moewardi.** *Chronic Myeloid Leukemia* (CML) is a myeloproliferative disease that is characterized by the increase of myeloid cells and Philadelphia chromosome which is caused by the translocation of the *BCR-ABL* gene. Nilotinib is an approved Tyrosine Kinase Inhibitor (TKI) for the treatment of adult patients newly diagnosed with CML in the chronic phase (CML-CP) with positive Philadelphia Chromosome (Ph+) or Ph+ CML patients who are resistant or intolerance to imatinib in the CP or accelerated phase (AP). One of the ADR that occur in the use of nilotinib is musculoskeletal pain. This study aims to determine the frequency of occurrence of musculoskeletal pain and analyze the influence of age factors, Body Mass Index (BMI), and history of Diabetes Mellitus (DM) in CML patients with nilotinib chemotherapy in RSUD Dr. Moewardi. The study was conducted as an observational study with cross sectional design on 35 subjects of CML patients with nilotinib chemotherapy in January 2016-March 2019. The

evaluation was carried out for 1 year after subjects received nilotinib chemotherapy using medical records and data collection sheets. The results of this study showed that 13 patients (37,1%) experienced musculoskeletal pain. The evaluation results using Naranjo Algorithm are 7 patients in the possible category and 6 patients in the probable category. Body Mass Index (BMI) significantly influence the occurrence of musculoskeletal pain with p value of 0,041, Odds Ratio of 7, and 95% Confidence Interval of 1,09-45,16. Meanwhile, age and history of DM was not significantly influence the occurrence of musculoskeletal pain.

Keywords: CML; TKI; Nilotinib; *Musculoskeletal Pain*

1. Pendahuluan

Chronic Myeloid Leukemia (CML) merupakan suatu keganasan hematologis yang ditandai dengan translokasi antara lengan panjang kromosom 9 dan kromosom 22 yang terjadi dalam sel induk hematopoietik, serta mengarah pada pembentukan onkogen *BCR-ABL* (Hollyoake & Vetrie, 2017). CML memengaruhi sekitar 1-2 orang per 100.000 orang dewasa per tahun. Data menunjukkan bahwa kejadian CML pada populasi Asia lebih rendah dibandingkan Kaukasia, tetapi memengaruhi populasi muda. Pusat penelitian di Indonesia mencatat median usia penderita CML adalah 34,67 tahun dan 61% berjenis kelamin laki-laki (Widyastuti *et al.*, 2020). Insiden tersebut tidak berubah selama beberapa dekade terakhir dan meningkat seiring bertambahnya usia (Reksodiputro *et al.*, 2015).

Terapi pengobatan CML telah terjadi perkembangan dari tahun ke tahun. Salah satu pengobatan CML di era sekarang yaitu menggunakan *Tyrosine Kinase Inhibitor* (TKI). TKI merupakan golongan obat untuk CML yang tertarget pada *BCR-ABL1* dan berkontribusi dalam menghambat aktivitas tirosin kinase (Hiwase *et al.*, 2018). Obat-obatan golongan TKI antara lain imatinib, nilotinib, dan dasatinib. Nilotinib diketahui lebih kuat dan selektif daripada imatinib, hal itu ditunjukkan dari efektivitas yang lebih unggul dibandingkan dengan imatinib (Cortes *et al.*, 2016). Signorovitch, *et al* (2014) menyatakan bahwa nilotinib memiliki tingkat MMR yang lebih besar dibandingkan dengan imatinib dan dasatinib. Pada penelitian terkait respon molekuler yang dinilai dalam 3 bulan menunjukkan bahwa nilotinib lebih baik dalam mencapai *Molecular Response* (MR) daripada dasatinib (Cortes *et al.*, 2020).

Penggunaan kemoterapi nilotinib dapat menyebabkan munculnya efek samping obat atau disebut *Adverse Drug Reactions* (ADR). Salah satu ADR yang terjadi pada penggunaan TKI khususnya nilotinib yaitu *musculoskeletal pain*. Nilotinib dapat memengaruhi homeostasis otot dengan menghambat diferensiasi miogenik dan merangsang proliferasi myoblast. Pada studi klinis dengan pasien dewasa yang baru didiagnosis dengan CML Ph+ dalam fase kronis, gejala *musculoskeletal pain* dilaporkan dalam satu tahun setelah penghentian nilotinib yaitu 24,7% berbanding pada tahun sebelumnya dengan pengobatan nilotinib sebesar 16,3%. Sedangkan dalam studi klinis dengan pasien dewasa CML Ph+ dalam fase kronis pada pengobatan nilotinib dan sebelumnya diobati dengan imatinib, gejala

musculoskeletal pain dilaporkan dalam satu tahun penghentian yaitu 42% berbanding dalam tahun sebelumnya dengan pengobatan nilotinib sebesar 14% (Kota & Atallah, 2019).

Pasien CML dengan kemoterapi nilotinib mempunyai kemungkinan besar untuk mengalami *musculoskeletal pain*. *Musculoskeletal pain* yang terjadi umumnya memiliki tingkat keparahan yang rendah. Namun, apabila menjadi kronis hal tersebut dapat berdampak pada kualitas hidup pasien dan kepatuhan pasien terhadap pengobatan. Pada era pengobatan TKI ini masih sedikit penelitian yang membahas secara mendalam mengenai efek *musculoskeletal pain* pada pasien CML dengan kemoterapi nilotinib dan belum ada juga penelitian yang membahas mengenai hal tersebut di RSUD Dr. Moewardi. Maka dari itu, peneliti ingin mengetahui frekuensi terjadinya *musculoskeletal pain* dan menganalisis pengaruh faktor usia, Indeks Masa Tubuh (IMT), dan riwayat Diabetes Mellitus (DM) terhadap terjadinya *musculoskeletal pain* pada pasien *Chronic Myeloid Leukemia* (CML) dengan kemoterapi nilotinib di RSUD Dr. Moewardi.

2. Bahan dan Metode

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian observasional dengan menggunakan desain *cross sectional*. Penelitian dilakukan pada bulan Maret – Juli 2020 dari persiapan penelitian, pengumpulan data, dan analisis data. Metode penelitian ini telah mendapatkan sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi Surakarta dengan nomor surat 688/V/HREC/2020 disertai surat pernyataan menyimpan rahasia rekam medis yang disetujui oleh peneliti. Pengambilan sampel untuk data identifikasi *musculoskeletal pain* dilakukan dengan menggunakan data rekam medis pasien *Chronic Myeloid Leukemia* (CML) pada bulan Januari 2016 – Maret 2019 dan dilakukan pengamatan data dalam kurun waktu satu tahun. Penentuan besar sampel minimal untuk penelitian ini dihitung menggunakan rumus *rule of thumbs* dengan 3 variabel bebas yang diteliti yaitu usia, Indeks Masa Tubuh (IMT), dan riwayat Diabetes Mellitus (DM).

Pengambilan sampel menggunakan metode *non probability sampling* dengan teknik pengambilan sampel *consecutive sampling*. Data penelitian diperoleh dari rekam medis yang dicatat dalam lembar pengumpul data kemudian dilakukan analisis data. Analisis deskriptif dilakukan untuk mendeskripsikan frekuensi terjadinya *musculoskeletal pain* pada pasien *Chronic Myeloid Leukemia* (CML) dengan kemoterapi nilotinib. Analisis untuk mengidentifikasi faktor-faktor yang memengaruhi terjadinya *musculoskeletal pain* dilakukan dengan program *SPSS Statistics 24.0 for Windows* menggunakan uji *Chi-Square* bila memenuhi syarat (tidak ada sel yang mempunyai nilai *expected* kurang dari lima). Jika tidak memenuhi syarat, maka digunakan uji *Fisher*. Variabel yang dapat masuk ke dalam analisis multivariat dengan uji regresi logistik adalah variabel yang pada analisis bivariat memiliki

nilai $p < 0,25$. Metode yang digunakan pada analisis regresi logistik yaitu metode *backward LR* (Dahlan, 2011).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Karakteristik pasien

Pada penelitian ini didapatkan 35 pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dari total populasi sebanyak 63 pasien. Berdasarkan distribusi usia, terdapat 7 pasien (20%) berusia 18-35 tahun dan 28 pasien (80%) berusia > 35 tahun. Hal ini sesuai dengan penelitian Kim, *et al* (2010), yang menyatakan bahwa usia rata-rata pasien yang didiagnosis dengan CML di wilayah Asia-Pasifik adalah di atas usia 35 tahun yaitu sekitar usia 45 tahun. Sementara di negara Barat usia rata-rata 20 tahun lebih tua, yaitu usia 65 tahun. Distribusi pasien berdasarkan jenis kelamin pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pasien laki-laki berjumlah 23 (65,71%) dan pasien perempuan berjumlah 12 (34,29%). Berdasarkan distribusi jenis kelamin, diketahui pasien laki-laki memiliki prevalensi yang lebih besar dibandingkan dengan pasien perempuan. Hasil yang sama ditunjukkan pada penelitian yang dilakukan oleh Kim, *et al* (2010), yang menyatakan bahwa pasien CML di Asia-Pasifik lebih banyak ditemukan pada pasien laki-laki dibandingkan perempuan dengan perbandingan sebesar 3 : 2. Akan tetapi, pada penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa *musculoskeletal pain* lebih sering terjadi pada pasien perempuan. Pada penelitian Molsted, *et al* (2012), melaporkan bahwa *musculoskeletal pain* lebih sering terjadi pada perempuan dibandingkan dengan laki-laki. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa jenis kelamin perempuan memengaruhi tingkat risiko terjadinya *musculoskeletal pain* pada pasien CML dengan pengobatan TKI (Yu *et al.*, 2019).

Distribusi pasien berdasarkan Indeks Masa Tubuh (IMT) dikelompokkan menjadi nilai $IMT < 25 \text{ kg/m}^2$ dan $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ yang diukur berdasarkan data berat badan (dalam kg) dibagi kuadrat tinggi badan (dalam meter) atau BB/TB^2 . Pada Tabel 1, terdapat 27 pasien (77,14%) dengan nilai $IMT < 25 \text{ kg/m}^2$ dan hanya 8 pasien (22,86%) dengan nilai $IMT \geq 25 \text{ kg/m}^2$. Meskipun pada penelitian ini pasien dengan $IMT \geq 25 \text{ kg/m}^2$ lebih sedikit, akan tetapi perlu diketahui bahwa peningkatan berat badan dengan IMT tinggi telah dikaitkan dengan peningkatan risiko pengembangan keganasan. Hal itu ditunjukkan dengan bukti epidemiologi yang menunjukkan bahwa peningkatan berat badan dan obesitas adalah faktor risiko untuk beberapa kanker hematologi termasuk CML (Breccia *et al.*, 2013). Dimana peningkatan berat badan dan obesitas tersebut dapat disebabkan karena faktor genetik yang diperburuk dengan gaya hidup yang tidak sehat (Williams *et al.*, 2015).

Tabel 1. Karakteristik pasien *Chronic Myeloid Leukemia* (CML) di RSUD Dr. Moewardi pada bulan Januari 2016 – Maret 2019 (N Total = 35).

Karakteristik	Jumlah (n)	Presentase (%)
Usia		
18-35 tahun	7	20%
>35 tahun	28	80%
Jenis Kelamin		
Laki-Laki	23	65,71%
Perempuan	12	34,29%
Indeks Masa Tubuh (IMT)		
< 25 kg/m ²	27	77,14%
≥ 25 kg/m ²	8	22,86%
Riwayat Diabetes Mellitus (DM)		
Memiliki riwayat DM	3	8,57%
Tidak memiliki riwayatDM	32	91,43%
Durasi Terapi Obat		
< 12 bulan	2	5,71%
≥ 12 bulan	33	94,29%

Distribusi pasien berdasarkan riwayat Diabetes Mellitus (DM) ini didominasi oleh pasien yang tidak memiliki riwayat DM dengan jumlah 32 pasien (91,43%) dibandingkan dengan pasien yang memiliki riwayat DM dengan jumlah 3 pasien (8,57%). Pasien CML yang memiliki riwayat DM bisa lebih rentan mengalami efek lain dari pengobatan nilotinib (Martino *et al.*, 2017). Menurut penelitian Merashli, *et al* (2015), DM merupakan salah satu penyakit penyerta yang berpengaruh pada terjadinya *musculoskeletal pain*. Kondisi tersebut dapat mempengaruhi sendi, jaringan lunak, saraf, otot, atau tendon. Distribusi pasien berdasarkan durasi terapi obat pada Tabel 1 menunjukkan bahwa setelah dilakukan evaluasi selama 1 tahun sebanyak 33 pasien (94,29%) mendapatkan kemoterapi nilotinib dengan durasi terapi ≥ 12 bulan. Sedangkan sebanyak 2 pasien (5,71%) telah mendapatkan kemoterapi nilotinib dengan durasi terapi < 12 bulan.

3.2 Kejadian *musculoskeletal pain* dengan kemoterapi nilotinib

Pada penelitian ini, diketahui bahwa dari 35 pasien, pasien yang mengalami *musculoskeletal pain* lebih rendah daripada pasien yang tidak mengalami *musculoskeletal pain* dengan nilai presentase pasien yang mengalami *musculoskeletal pain* sebesar 37,1% (13 pasien). Penelitian yang dilakukan oleh Hussain & Shaikh (2015), menyatakan bahwa salah satu efek samping obat yang terjadi selama pengobatan nilotinib yaitu terjadinya berbagai jenis *musculoskeletal pain*. Keluhan otot sangat relevan pada pasien yang diobati dengan nilotinib. Keluhan otot ini sangat terkait dengan adanya kelelahan dan berkontribusi terhadap berkurangnya kontrol penyakit dan gangguan kualitas hidup. Meskipun mekanisme nilotinib yang menyebabkan keluhan otot kurang diketahui, akan tetapi disebutkan bahwa TKI begitu

pula dengan nilotinib dapat mengganggu kerapatan otot dan fungsi otot pada tubuh (Janssen *et al*, 2019).

Penelitian ini menganalisis lebih lanjut efek penggunaan kemoterapi nilotinib terhadap *musculoskeletal pain* secara periodik setiap 3 bulan untuk mengetahui waktu paling dominan pasien mengalami *musculoskeletal pain*. Berdasarkan pada Tabel 2, diketahui bahwa kejadian *musculoskeletal pain* tidak memiliki perbedaan yang bermakna pada periode 1 (bulan ke 1 – 3) dan periode 4 (bulan ke 10 – 12). Kejadian *musculoskeletal pain* paling banyak terjadi pada periode 2 (bulan ke 4 – 6) dengan *p value* sebesar 0,001 ($p < 0,05$) dan pada periode 3 (bulan ke 7 – 9) dengan *p value* sebesar 0,014 ($p < 0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada terjadinya *musculoskeletal pain* di periode 2 dan 3.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Nakamae, *et al* (2011), menyebutkan bahwa efek *musculoskeletal pain* termasuk nyeri otot dan nyeri sendi sering dilaporkan pada pengobatan nilotinib dengan waktu terjadi yaitu setelah 6 bulan terapi nilotinib. Waktu terjadinya efek tersebut lebih lama dikarenakan terjadinya *musculoskeletal pain* pada penggunaan nilotinib termasuk suatu *late effect* sehingga efeknya baru terjadi setelah beberapa bulan pengobatan. Hal tersebut juga ditunjukkan pada penelitian yang dilakukan oleh Hiwase, *et al* (2018) yang menyatakan bahwa pada penelitian selama 24 bulan dan dievaluasi secara periodik, pasien CML yang telah dialihkan pada pengobatan nilotinib mengalami berbagai efek samping obat termasuk *musculoskeletal pain*.

Tabel 2. Hasil evaluasi kejadian *Musculoskeletal Pain* secara periodik pada pasien CML dengan kemoterapi nilotinib. Keterangan: * menunjukkan hasil analisis uji Fisher.

Periode Kejadian <i>Musculoskeletal Pain</i>		<i>Musculoskeletal Pain</i>		Tidak <i>Musculoskeletal Pain</i>		<i>p value</i> *
		N	%	N	%	
Periode 1 (Bulan ke 1 - 3)	Ya	2	100%	0	0%	0,131
	Tidak	11	33,3%	22	66,7%	
Periode 2 (Bulan ke 4 - 6)	Ya	6	100%	0	0%	0,001
	Tidak	7	24,1%	22	75,9%	
Periode 3 (Bulan ke 7 - 9)	Ya	4	100%	0	0%	0,014
	Tidak	9	29%	22	71%	
Periode 4 (Bulan ke 10 - 12)	Ya	1	100%	0	0%	0,371
	Tidak	12	35,3%	22	64,7%	
Total		13	37,1%	22	62,9%	

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa penghentian pengobatan dikaitkan dengan risiko efek *musculoskeletal pain* tingkat rendah dengan beberapa diantaranya mungkin mengalami kejadian yang bertahan lama. Pasien CML dapat mengalami *musculoskeletal pain* setelah penghentian pengobatan, dimana insiden kejadian *musculoskeletal pain* tersebut dapat

pula menurun dari waktu ke waktu (Pulte *et al.*, 2019). *Musculoskeletal pain* yang diklasifikasikan sebagai sindrom penarikan TKI dilaporkan pada 24,7% pasien yang berhenti menggunakan nilotinib. ADR ini sebagian besar terjadi pada kisaran waktu <1 hingga 6 bulan dengan median waktu terjadinya *musculoskeletal pain* yaitu 1 bulan (Kota & Atallah, 2019).

Penelitian ini juga mengevaluasi lebih lanjut efek *musculoskeletal pain* menggunakan Algoritma Naranjo. Algoritma Naranjo berfungsi untuk menentukan apakah efek yang merugikan benar-benar disebabkan oleh obat atau faktor lain. Berdasarkan pada Tabel 3, diketahui bahwa dari 35 pasien, sebanyak 22 pasien (62,86%) tidak mengalami *musculoskeletal pain* sehingga masuk dalam kategori skala probabilitas *doubtful*. Pasien yang mengalami *musculoskeletal pain* dalam kategori skala probabilitas *possible* sebanyak 7 pasien (20%), artinya bahwa efek *musculoskeletal pain* yang dirasakan pasien kemungkinan disebabkan oleh kemoterapi nilotinib yang dikonsumsi pasien selama pengobatan. Sedangkan sebanyak 6 pasien (17,14%) mengalami *musculoskeletal pain* dengan kategori skala probabilitas *probable*, yang artinya bahwa efek *musculoskeletal pain* yang dirasakan pasien besar kemungkinan disebabkan oleh kemoterapi nilotinib yang dikonsumsi pasien selama pengobatan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Hiwase, *et al* (2018), diketahui bahwa efek dari nilotinib terbagi menjadi hematologis dan non-hematologis. Efek non-hematologis yang paling umum terkait dengan terapi pengobatan nilotinib yaitu ruam, mual, pruritus, dan sakit kepala. Selain itu, efek samping obat yang mungkin terjadi pula dari terapi nilotinib yaitu diare, *musculoskeletal pain* seperti kejang otot, nyeri sendi, dan nyeri otot.

Tabel 3. Hasil evaluasi Algoritma Naranjo terjadinya *Musculoskeletal Pain* pada pasien CML dengan kemoterapi nilotinib (n total = 35 pasien).

Kategori	Jumlah	Presentase (%)
<i>Doubtful</i>	22	62,86%
<i>Possible</i>	7	20%
<i>Probable</i>	6	17,14%

Pasien yang menerima nilotinib dapat mengalami intoleransi berupa terjadinya ADR, salah satunya yaitu *musculoskeletal pain* dengan *grade* yang berbeda-beda. Akan tetapi, pada penelitian ini tidak diukur skala nyeri untuk terjadinya *musculoskeletal pain*, sehingga tidak bisa mengetahui tingkat keparahan *musculoskeletal pain* yang terjadi. Apabila mengetahui skala nyeri dan tingkat keparahan *musculoskeletal pain* yang dialami, dapat dilakukan monitoring penatalaksanaan terapi *musculoskeletal pain* dengan lebih tepat. Diketahui secara luas bahwa toksisitas yang parah dapat menentukan perubahan atau gangguan dalam terapi. Begitu pula pada efek *musculoskeletal pain* yang tidak jarang juga ditemukan dalam kondisi yang ringan hingga parah (Jabbour *et al.*, 2011). Secara umum, sebagian besar ADR yang terjadi selama terapi inhibitor *BCR-ABL* dapat dikelola dengan penghentian atau pengurangan

dosis serta dengan perawatan suportif (Wei *et al.*, 2010). Pada penelitian Rosti, *et al* (2012), menyebutkan bahwa pasien dengan nilotinib dapat mengalami *musculoskeletal pain* hingga *grade* 3. Dimana penatalaksanaan pada toksisitas nilotinib dengan *grade* ≥ 3 dapat dilakukan dengan penghentian pengobatan (Jabbour *et al.*, 2011).

Pada penelitian ini pasien yang mengalami *musculoskeletal pain* diberikan terapi pengobatan untuk menangani efek *musculoskeletal pain* tersebut. Terapi yang digunakan yaitu obat golongan NSAIDs (*Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs*) dan golongan kortikosteroid. Pengobatan dengan NSAIDs dan kortikosteroid merupakan salah satu manajemen klinis *musculoskeletal pain* pada pasien CML dengan nilotinib. Dimana setelah diberikan pengobatan tersebut, pada penelitian ini terdapat 2 pasien yang masih mengalami *musculoskeletal pain*, sedangkan pada 11 pasien lainnya pengobatan tersebut sudah cukup untuk mengobati keluhan *musculoskeletal pain*. Pada penelitian yang dilakukan oleh Rosti, *et al* (2012), menjelaskan bahwa pasien yang mengalami *musculoskeletal pain* biasanya ringan dan mudah dikelola tanpa pengurangan atau interupsi nilotinib, dimana pengobatan dengan NSAIDs sudah dapat mengendalikan *musculoskeletal pain* yang terjadi. Keluhan *musculoskeletal pain* dapat dikelola dengan pengobatan NSAIDs dan apabila tidak ada perbaikan, maka pemberian kortikosteroid dosis rendah dapat dipertimbangkan (Kota & Atallah, 2019). Hal tersebut juga dijelaskan pada penelitian Diab & Schiffer (2019), yang menyatakan bahwa pasien yang mengalami *musculoskeletal pain* merespon pengobatan NSAIDs secara minimal dan memerlukan kortikosteroid jangka pendek untuk meringankannya.

3.3 Pengaruh faktor-faktor terhadap terjadinya *musculoskeletal pain* dengan kemoterapi nilotinib

3.3.1 Analisis bivariat faktor terhadap *musculoskeletal pain*

Analisis bivariat pada penelitian ini dilakukan antara faktor-faktor seperti usia, Indeks Masa Tubuh (IMT), dan riwayat Diabetes Mellitus (DM) terhadap ada tidaknya *musculoskeletal pain*. Analisis bivariat yang digunakan pada penelitian ini adalah uji *Chi Square* atau uji *Fisher* karena analisis yang dilakukan pada penelitian termasuk dalam analisis komparatif kategorik tidak berpasangan. Setelah dilakukan uji bivariat, didapatkan hasil seperti yang tercantum pada Tabel 4. Berdasarkan hasil uji komparatif *Fisher* pada Tabel 4 didapatkan bahwa *p value* usia dengan terjadinya *musculoskeletal pain* sebesar 0,220 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan antara usia dengan terjadinya *musculoskeletal pain*. Faktor usia memiliki nilai OR sebesar 4,5 yang artinya bahwa risiko *musculoskeletal pain* lebih tinggi 4,5 kali pada kelompok usia > 35 tahun dibandingkan dengan kelompok usia 18 – 35 tahun. Interval Kepercayaan 95% (IK 95%) faktor usia yaitu

0,48 – 42,50. Nilai IK 95% mencakup angka 1 artinya dari data yang sudah ada belum dapat disimpulkan bahwa faktor usia yang diteliti benar-benar merupakan faktor risiko.

Hal ini tidak sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Najafipour, *et al* (2017), yang menyatakan bahwa usia merupakan salah satu faktor yang memengaruhi secara signifikan terhadap peningkatan kejadian *musculoskeletal pain*. Tinjauan sistematis terkait *musculoskeletal pain* mengungkapkan bahwa orang berusia lebih dari 35 tahun sebagian besar lebih rentan terkena *musculoskeletal pain*. Hal tersebut dikarenakan pada orang yang berusia lebih tua maka kepadatan tulang dan kekuatan otot akan semakin rendah sehingga berpengaruh pada tingginya masalah tulang dan otot (Blyth & Noguchi, 2017).

Pada faktor IMT dengan terjadinya *musculoskeletal pain* diperoleh *p value* sebesar 0,032 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara usia dengan terjadinya *musculoskeletal pain*. Faktor IMT memiliki nilai OR sebesar 8,57 yang artinya bahwa risiko *musculoskeletal pain* lebih tinggi pada kelompok $IMT \geq 25 \text{ kg/m}^2$ dibandingkan dengan kelompok $IMT < 25 \text{ kg/m}^2$. Interval Kepercayaan 95% (IK 95%) faktor IMT yaitu 1,39 – 52,75. Nilai IK 95% tersebut tidak mencakup angka 1, yang artinya pada populasi yang diwakili oleh sampel dapat disimpulkan bahwa benar faktor IMT merupakan faktor yang berhubungan dengan terjadinya *musculoskeletal pain*. Hal itu sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Blümel, *et al* (2017), yang menyatakan bahwa pasien dengan nilai $IMT \geq 25 \text{ kg/m}^2$ memiliki nilai risiko tertinggi terhadap terjadinya *musculoskeletal pain*. Penelitian yang dilakukan pada wanita obesitas diketahui *p value* hasil uji bivariat menunjukkan bahwa pada wanita obesitas berhubungan signifikan dengan terjadinya *musculoskeletal pain* (Ogwumike *et al*, 2016). Pada penelitian Vincent, *et al* (2012), menyebutkan bahwa obesitas memengaruhi berbagai aktivitas sehari-hari dimana hal tersebut berhubungan dengan beban tubuh yang berat, sehingga dapat meningkatkan keluhan pada sistem muskuloskeletal.

Hasil uji komparatif Fisher pada Tabel 4 didapatkan *p value* antara riwayat DM dengan terjadinya *musculoskeletal pain* sebesar 0,541 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan antara riwayat DM dengan terjadinya *musculoskeletal pain*. Faktor riwayat DM memiliki nilai OR sebesar 3,82 yang artinya bahwa risiko *musculoskeletal pain* lebih tinggi 3,82 kali pada kelompok yang memiliki riwayat DM dibandingkan dengan kelompok yang tidak memiliki riwayat DM. Interval Kepercayaan 95% (IK 95%) faktor riwayat DM yaitu 0,31 – 46,93. Nilai IK 95% mencakup angka 1 artinya dari data yang sudah ada belum dapat disimpulkan bahwa faktor usia yang diteliti benar-benar merupakan faktor risiko. Pada penelitian yang dilakukan oleh Molsted, *et al* (2012), menyatakan bahwa pasien dengan diabetes mellitus memiliki prevalensi *musculoskeletal pain* yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan pasien non diabetes mellitus. Analisis multivariat faktor risiko terhadap

musculoskeletal pain. Pada Tabel 4 dapat diketahui variabel yang memiliki *p value* < 0,25 yaitu usia dan Indeks Masa Tubuh (IMT). Selanjutnya variabel tersebut dilakukan pengujian dengan menggunakan uji regresi logistik. Hasil analisis regresi logistik faktor-faktor terhadap terjadinya *musculoskeletal pain* dapat diamati pada Tabel 5.

Tabel 4. Hasil uji komparatif antara faktor-faktor terhadap ada tidaknya *musculoskeletal pain* (jumlah total pasien = 35). Keterangan: * menunjukkan faktor-faktor yang lolos uji regresi logistik. % = $(n / \Sigma) \times 100\%$ dan N total = jumlah total seluruh subyek penelitian dengan kemoterapi nilotinib.

Faktor-Faktor		Musculoskeletal Pain				p value	OR	IK (95%)	
		Ya(N = 13)		Tidak(N = 22)				Min	Maks
		n	%	n	%				
Usia	> 35 tahun	12	42,9%	16	57,1%	0,220*	4,50	0,48	42,50
	18 - 35 tahun	1	14,3%	6	85,7%				
IMT	≥ 25 kg/m ²	6	75,0%	2	25,0%	0,032*	8,57	1,39	52,75
	< 25 kg/m ²	7	25,9%	20	74,1%				
Riwaya t DM	Ya	2	66,7%	1	33,3%	0,541	3,82	0,31	46,93
	Tidak	11	34,4%	21	65,6%				
Total		13	37,1%	22	62,9%				

Nilai *Nagelkerke R Square* dapat digunakan untuk melihat kemampuan variabel independen dalam menjelaskan variabel dependen (Tabel 5). Variabel independen dalam analisis ini yaitu usia dan IMT, sedangkan variabel dependen yaitu terjadinya *musculoskeletal pain*. Nilai *Nagelkerke R Square* pada langkah pertama sebesar 0,248 yang menunjukkan bahwa kemampuan faktor usia dan IMT dalam menjelaskan terjadinya *musculoskeletal pain* adalah sebesar 24,8%. Hal itu berarti masih terdapat 75,2% dari faktor lain yang mungkin lebih dapat menjelaskan terjadinya *musculoskeletal pain*. Faktor lain yang mungkin dapat menjelaskan yaitu faktor penggunaan obat lain. Penggunaan obat lain yang dapat menyebabkan *musculoskeletal pain* yaitu penggunaan obat golongan statin. Selain penggunaan obat lain faktor riwayat penggunaan imatinib juga dapat menjelaskan terjadinya *musculoskeletal pain*. Hal itu dikarenakan bahwa efek samping imatinib dilaporkan lebih tinggi daripada nilotinib termasuk terjadinya *musculoskeletal pain*, dimana penghentian imatinib dan beralih ke nilotinib menyebabkan sindrom penghentian TKI yang lebih parah berupa *musculoskeletal pain* (Bhalla et al, 2016).

Langkah pertama pada hasil analisis regresi logistic factor-faktor terhadap terjadinya *Musculoskeletal Pain* di RSUD Dr. Moewardi menunjukkan hasil *p value* yang paling besar adalah faktor usia dengan *p value* 0,426 (*p* > 0,05). Hal itu menunjukkan bahwa variabel usia tidak berpengaruh secara signifikan terhadap terjadinya *musculoskeletal pain*. Nilai OR pada

analisis regresi logistik digunakan dalam menggambarkan hasil akhir dari faktor risiko terjadinya *musculoskeletal pain*. Analisis pada faktor usia memiliki nilai OR sebesar 2,57 yang artinya bahwa odds kelompok usia >35 tahun untuk terjadinya *musculoskeletal pain* adalah 2,57 kali odds kelompok usia 18 – 35 tahun untuk terjadinya *musculoskeletal pain*. Faktor yang berpengaruh signifikan terhadap terjadinya *musculoskeletal pain* pada penelitian ini yaitu Indeks Masa Tubuh (IMT) dengan *p value* 0,041 ($p < 0,05$). Pada analisis ini faktor IMT memiliki nilai OR sebesar 7 yang artinya bahwa odds kelompok IMT $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ untuk terjadinya *musculoskeletal pain* adalah 7 kali odds kelompok IMT $< 25 \text{ kg/m}^2$ untuk terjadinya *musculoskeletal pain*. Interval Kepercayaan 95% (IK 95%) faktor IMT pada analisis ini yaitu 1,09 – 45,16. Nilai IK 95% tersebut tidak mencakup angka 1, sehingga dapat diinterpretasikan bahwa faktor IMT merupakan faktor risiko dimana pasien dengan nilai IMT $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ mempunyai kemungkinan 7 kali untuk mengalami *musculoskeletal pain* dibandingkan dengan pasien yang memiliki nilai IMT $< 25 \text{ kg/m}^2$.

Tabel 5. Hasil analisis regresi logistik faktor-faktor terhadap terjadinya *Musculoskeletal Pain* di RSUD Dr. Moewardi.

Langka h	Variabe l	Nagelkerk e R Square	B	P value	OR	IK 95%	
						Min	Maks
1	Usia	0,248	0,944	0,426	2,57	0,25	26,25
	IMT		1,946	0,041	7	1,09	45,16
	Konstanta		-1,792	0,097	0,17		

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh MacLellan, *et al* (2017), yang menyatakan bahwa terdapat hubungan yang sangat signifikan antara obesitas dan *musculoskeletal pain*. Kelebihan berat badan (IMT $\geq 25 \text{ kg/m}^2$) dengan terjadinya *musculoskeletal pain* merupakan suatu kondisi umum yang sering terjadi. Obesitas sangat berhubungan dengan terjadinya *musculoskeletal pain* dimana prevalensi kejadian *musculoskeletal pain* semakin meningkat pada populasi yang obesitas (Peltonen *et al*, 2003). Sehingga berdasarkan Tabel 5 hasil analisis multivariat, dapat dibuat persamaan analisis regresi logistik persamaan 1.

$$y = (-1,792) + 0,944 \times \text{Usia} + 1,946 \times \text{Indeks Masa Tubuh}$$

Persamaan 1. Analisis regresi logistic. Keterangan: Usia (>35 tahun atau 18 – 35 tahun), Indeks Masa Tubuh ($\geq 25 \text{ kg/m}^2$ atau $< 25 \text{ kg/m}^2$).

Hasil dari penelitian ini menunjukkan faktor risiko yang memengaruhi secara signifikan terhadap terjadinya *musculoskeletal pain* pada pasien CML dengan kemoterapi nilotinib di RSUD Dr. Moewardi adalah faktor Indeks Masa Tubuh (IMT) dengan *p value* sebesar 0,041. Nilai OR sebesar 7 dengan Interval Kepercayaan 95% (IK 95%) yaitu 1,09 – 45,16 yang

artinya bahwa pasien dengan Indeks Masa Tubuh (IMT) $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ memiliki kemungkinan 7 kali untuk mengalami *musculoskeletal pain* dibanding pasien dengan Indeks Masa Tubuh (IMT) $<25 \text{ kg/m}^2$. Faktor usia dan riwayat Diabetes Mellitus (DM) tidak berpengaruh secara signifikan terhadap terjadinya *musculoskeletal pain*.

4. Kesimpulan

Frekuensi terjadinya *musculoskeletal pain* pada pasien *Chronic Myeloid Leukemia* (CML) dengan kemoterapi nilotinib di RSUD Dr. Moewardi yaitu sebesar 37,1% (13 pasien) dari total jumlah pasien sebanyak 35 pasien dengan faktor yang berpengaruh secara signifikan yaitu faktor Indeks Masa Tubuh (IMT), sedangkan faktor usia dan riwayat Diabetes Mellitus (DM) tidak berpengaruh secara signifikan terhadap terjadinya *musculoskeletal pain*.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih kepada berbagai pihak di RSUD Dr. Moewardi Surakarta yang telah memberikan izin untuk melakukan penelitian dan memperoleh data untuk mendukung penelitian ini.

Deklarasi Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

Daftar Pustaka

- Bhalla, S., Tremblay, D., and Mascarenhas, J. (2016). Discontinuing Tyrosine Kinase Inhibitor Therapy in Chronic Myelogenous Leukemia: Current Understanding and Future Directions. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*, 16(9), 488–494. 10.1016/j.clml.2016.06.012.
- Blümel, J. E., Arteaga, E., Mezones-Holguín, E., Zúñiga, M. C., Witis, S., Vallejo, M. S., Tserotas, K., Sánchez, H., Onatra, W., Ojeda, E., Mostajo, D., Monterrosa, A., Lima, S., Martino, M., Hernández-Bueno, J. A., Gómez, G., Espinoza, M. T., Flores, D., Chedraui, P., Calle, A., Bravo, L.M., Benítez, Z., Bencosme, A., and Baron, G. (2017). Obesity is associated with a higher prevalence of musculoskeletal pain in middle-aged women. *Gynecological Endocrinology*, 33(5), 378–382. 10.1080/09513590.2016.1269741.
- Blyth, F. M., and Noguchi, N. (2017). Chronic musculoskeletal pain and its impact on older people. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 31(2), 160–168. 10.1016/j.berh.2017.10.004.
- Breccia, M., Loggisci, G., Salaroli, A., Serrao, A., Mancini, M., Diverio, D., Latagliata, R., and Alimena, G. (2013). Delayed cytogenetic and major molecular responses associated to increased BMI at baseline in chronic myeloid leukemia patients treated with imatinib. *Cancer Letters*, 333(1), 32–35. 10.1016/j.canlet.2012.12.018.
- Cortes, J. E., Lipton, J. H., Miller, C. B., Busque, L., Akard, L. P., Pinilla-Ibarz, J., Keir, C., Warsi, G., Lin, F. P., and Mauro, M. J. (2016). Evaluating the Impact of a Switch to Nilotinib on Imatinib-Related Chronic Low-Grade Adverse Events in Patients With CML-CP: The ENRICH Study. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*, 16(5), 286–296. 10.1016/j.clml.2016.02.002.
- Cortes, J., Huynh, L., Mendelson, E., Brandt, P., Dalal, D., DerSarkissian, M., Cortina, D., Narkhede, S., and Sheng Duh, M. (2020). Treatment patterns and deep molecular response in chronic phase – chronic myeloid leukemia patients treated with second-line

- nilotinib or dasatinib: A multi-country retrospective chart review study. *Leukemia & Lymphoma*, 61(1), 98–107. 10.1080/10428194.2019.1644332.
- Dahlan, M. S. (2011). *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*, Penerbit Salemba.
- Diab, M., and Schiffer, C. A. (2019). The spectrum of musculoskeletal symptoms in patients with chronic myeloid leukemia after stopping tyrosine kinase inhibitors. *Leukemia Research*, 79, 1–2. 10.1016/j.leukres.2019.02.001.
- Hiwase, D., Tan, P., D’Rozario, J., Taper, J., Powell, A., Irving, I., Wright, M., Branford, S., Yeung, D. T., Anderson, L., Gervasio, O., Levetan, C., Roberts, W., Solterbeck, A., Traficante, R., and Hughes, T. (2018). Efficacy and safety of nilotinib 300 mg twice daily in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase who are intolerant to prior tyrosine kinase inhibitors: Results from the Phase IIIb ENESTswift study. *Leukemia Research*, 67, 109–115. 10.1016/j.leukres.2018.02.013.
- Holyoake, T. L., and Vetrie, D. (2017). The chronic myeloid leukemia stem cell: Stemming the tide of persistence. *Blood*, 129(12), 1595–1606. 10.1182/blood-2016-09-696013.
- Hussain, S., and Shaikh, M.U. (2015). Response and Adverse Effects of Nilotinib in Imatinib-resistant Chronic Myeloid Leukemia Patients: Data From a Developing Country. *Clinical Therapeutics*, 37(11), 2449–2457. 10.1016/j.clinthera.2015.08.026.
- Jabbour, E., Deininger, M., and Hochhaus, A. (2011). Management of adverse events associated with tyrosine kinase inhibitors in the treatment of chronic myeloid leukemia. *Leukemia*, 25(2), 201–210. 10.1038/leu.2010.215.
- Janssen, L., Frambach, S. J. C. M., Allard, N. A. E., Hopman, M. T. E., Schirris, T. J. J., Voermans, N. C., Rodenburg, R. J., Blijlevens, N. M. A., and Timmers, S. (2019). Skeletal muscle toxicity associated with tyrosine kinase inhibitor therapy in patients with chronic myeloid leukemia. *Leukemia*, 33(8), 2116–2120. 10.1038/s41375-019-0443-7.
- Kim, D.-W., Banavali, S. D., Bunworasate, U., Goh, Y.-T., Ganly, P., Huang, H., Irving, I., Jootar, S., Goh, H.-G., Koh, L.-P., Li, W., Naoe, T., Ng, S.-C., Purushotaman, V., Reksodiputro, H., Shih, L.-Y., Tang, J.-L., Tojo, A., Wang, J., and Wong, R. (2010). Chronic myeloid leukemia in the Asia-Pacific region: Current practice, challenges and opportunities in the targeted therapy era. *Leukemia Research*, 34(11), 1459–1471. 10.1016/j.leukres.2010.03.033.
- Kota, V., and Atallah, E. (2019). Musculoskeletal Pain in Patients With Chronic Myeloid Leukemia After Tyrosine Kinase Inhibitor Therapy Cessation. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*, 19(8), 480–487. 10.1016/j.clml.2019.05.007.
- MacLellan, G. A., Dunlevy, C., O’Malley, E., Blake, C., Breen, C., Gaynor, K., Wallace, N., Yoder, R., Casey, D., Mehegan, J., O’Shea, D., and Fullen, B. M. (2017). Musculoskeletal pain profile of obese individuals attending a multidisciplinary weight management service: *PAIN*, 158(7), 1342–1353. 10.1097/j.pain.0000000000000918.
- Martino, B., Mammì, C., Labate, C., Rodi, S., Ielo, D., Priolo, M., Postorino, M., Tripepi, G., Ronco, F., Laganà, C., Musolino, C., Greco, M., La Nasa, G., and Caocci, G. (2017). Genetic risk of prediabetes and diabetes development in chronic myeloid leukemia patients treated with nilotinib. *Experimental Hematology*, 55, 71–75. 10.1016/j.exphem.2017.07.007.
- Merashli, M., Chowdhury, T. A., and Jawad, A. S. M. (2015). Musculoskeletal manifestations of diabetes mellitus. *QJM*, 108(11), 853–857. 10.1093/qjmed/hcv106.
- Molsted, S., Tribler, J., and Snorgaard, O. (2012). Musculoskeletal pain in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 96(2), 135–140. 10.1016/j.diabres.2011.12.022.
- Najafipour, H., Sadeghigoghari, M., Kordestani, Z., Naghibzadeh Tahami, A., and Ghavipisheh, M. (2017). Prevalence of the Musculoskeletal Pain Syndrome and Its Associated Factors in People Between 15 and 80 Years in Kerman: A Population-based

- Study on 1700 Individuals. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 19(4). 10.5812/ircmj.45084.
- Nakamae, H., Shibayama, H., Kurokawa, M., Fukuda, T., Nakaseko, C., Kanda, Y., Nagai, T., Ohnishi, K., Maeda, Y., Matsuda, A., Amagasaki, T., and Yanada, M. (2011). Nilotinib as frontline therapy for patients with newly diagnosed Ph⁺ chronic myeloid leukemia in chronic phase: Results from the Japanese subgroup of ENESTnd. *International Journal of Hematology*, 93(5), 624–632. 10.1007/s12185-011-0841-8.
- Ogwumike, O. O., Adeniyi, A. F., and Orogbemi, O. O. (2016). Musculoskeletal pain among postmenopausal women in Nigeria: Association with overall and central obesity. *Hong Kong Physiotherapy Journal*, 34, 41–46. 10.1016/j.hkpj.2015.06.001.
- Peltonen, M., Lindroos, A. K., and Torgerson, J. S. (2003). Musculoskeletal pain in the obese: A comparison with a general population and long-term changes after conventional and surgical obesity treatment: *Pain*, 104(3), 549–557. 10.1016/S0304-3959(03)00091-5.
- Pulte, E. D., Wroblewski, T., Bloomquist, E., Tang, S., Farrell, A., Deisseroth, A., McKee, A. E., and Pazdur, R. (2019). U.S. Food and Drug Administration Benefit-Risk Assessment of Nilotinib Treatment Discontinuation in Patients with Chronic Phase Chronic Myeloid Leukemia in a Sustained Molecular Remission. *The Oncologist*, 24(5). 10.1634/theoncologist.2018-0759.
- Reksodiputro A, H. (2015). Epidemiology Study and Mutation Profile of Patients with Chronic Myeloid Leukemia (CML) in Indonesia. *Journal of Blood Disorders and Transfusion*, 06(03). 10.4172/2155-9864.1000271.
- Rosti, G., Castagnetti, F., Gugliotta, G., Palandri, F., and Baccarani, M. (2012). Physician's guide to the clinical management of adverse events on nilotinib therapy for the treatment of CML. *Cancer Treatment Reviews*, 38(3), 241–248. 10.1016/j.ctrv.2011.07.004.
- Signorovitch, J., Ayyagari, R., Reichmann, W. M., Wu, E. Q., and Chen, L. (2014). Major molecular response during the first year of dasatinib, imatinib or nilotinib treatment for newly diagnosed chronic myeloid leukemia: A network meta-analysis. *Cancer Treatment Reviews*, 40(2), 285–292. 10.1016/j.ctrv.2013.09.004.
- Vincent, H. K., Raiser, S. N., and Vincent, K. R. (2012). The aging musculoskeletal system and obesity-related considerations with exercise. *Ageing Research Reviews*, 11(3), 361–373. 10.1016/j.arr.2012.03.002.
- Wei, G., Rafiyath, S., and Liu, D. (2010). First-line treatment for chronic myeloid leukemia: Dasatinib, nilotinib, or imatinib. *Journal of Hematology & Oncology*, 3(1), 47. 10.1186/1756-8722-3-47.
- Widyastuti, R., Louisa, M., Rinaldi, I., Nova, R., Instiaty, I., and Priambodo, R. (2020). Mutation Analysis of ABL1 Gene and its Relation to the Achievement of Major Molecular Response in Indonesian Chronic Myeloid Leukemia Patients. *Current Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 17(1), 48–54. 10.2174/1875692117666190925115852.
- Williams, E. P., Mesidor, M., Winters, K., Dubbert, P. M., and Wyatt, S. B. (2015). Overweight and Obesity: Prevalence, Consequences, and Causes of a Growing Public Health Problem. *Current Obesity Reports*, 4(3), 363–370. 10.1007/s13679-015-0169-4.
- Yu, L., Huang, X., Gale, R. P., Wang, H., and Jiang, Q. (2019). Variables associated with patient-reported symptoms in persons with chronic phase chronic myeloid leukemia receiving tyrosine kinase inhibitor therapy: *Medicine*, 98(48), e18079. 10.1097/MD.00000000000018079.





Review: Profil Fitokimia dan Multipotensi dari *Coleus amboinicus* (Lour.)

Rahmawati¹, Puji Astuti^{2*} dan Subagus Wahyuono²

¹Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Jl. Sekip Utara, Sleman, Yogyakarta, Indonesia, 55281

²Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Jl. Sekip Utara, Sleman, Yogyakarta, Indonesia, 55281

*email korespondensi: puji_astuti@ugm.ac.id

Received 8 January 2021, Accepted 18 May 2021, Published 15 July 2021

Abstrak: *Coleus amboinicus* (Lour.) merupakan tanaman obat tradisional yang banyak digunakan oleh masyarakat dan telah diteliti secara ekstensif serta dilaporkan di beberapa bidang ilmu pengetahuan. Penulisan review artikel ini didasarkan pada studi literatur tahun 1993 hingga tahun 2021, yang diperoleh dari database google scholar, Scopus, Science Direct, PubMed, dan lainnya. Tanaman ini merupakan tanaman semak aromatis, berbunga, namun jarang berbiji dan dapat diperbanyak secara vegetatif. Profil senyawa fitokimianya dapat digolongkan menjadi beberapa kelas yang berbeda seperti terpenoid, fenolik, flavonoid, alkaloid, saponin, steroid dan tanin. Tanaman *C. amboinicus* (Lour.) kaya akan komponen fenolik seperti asam rosmarinat dan asam kafeat, dengan mayoritas komponen volatil utamanya yaitu karvakrol. Profil fitokimia *C. amboinicus* (Lour.) dapat bervariasi tergantung pada berbagai faktor, seperti lingkungan, keanekaragaman genetik, bagian tanaman yang digunakan, maupun metode dan proses ekstraksi. Potensi farmakologinya seperti antibakteri, antifungi, antioksidan, antikanker, antiinflamasi, antidiabetes, antihiperlipidemia, antimalaria serta laktagoga telah banyak dilaporkan. Selain itu, tanaman ini juga dimanfaatkan dalam kuliner serta sintesis biogenik senyawa nanopartikel. Eksplorasi dari tanaman *C. amboinicus* (Lour.) juga merambah kepada mikroorganisme endofitnya, dan dikaitkan dengan kemampuannya untuk menghasilkan senyawa bioaktif yang potensial sebagai antibakteri, agen biokontrol serta produksi enzim selulase. Review artikel ini memberikan informasi terkait botani, fitokimia, farmakologi, sintesis biogenik, pemanfaatan lainnya serta eksplorasi mikroorganisme endofitnya. Artikel ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi untuk pengembangan potensi *C. amboinicus* (Lour.) yang semakin meluas.

Kata kunci: *Coleus amboinicus* (Lour.); profil fitokimia; farmakologi; sintesis biogenik; endofit

Abstract: Review: Phytochemical profile and multipotency of *Coleus amboinicus* (Lour.). *Coleus amboinicus* (Lour.) is a traditional medicinal plant widely used, extensively studied, and reported in several science fields. This review article is written based on a literature study from 1993 to 2021, obtained mainly from google scholar, Scopus, Science Direct, PubMed databases. *Coleus amboinicus* (Lour.) is an aromatic succulent herb with flower but rarely has seeds, and its propagation could be through vegetative. The profile of phytochemical compounds is classified into several different classes: terpenoids, phenolics, flavonoids, alkaloids, saponins, steroids, and tannins. It has phenolics in rich quantities, such as rosmarinic acid and caffeic acid, with the main volatile compound namely carvacrol. The phytochemicals profile of *C. amboinicus* (Lour.) vary, which could be from many factors, such as environment, genetic diversity, part of the plant, methods, and processes of extraction. Pharmacological activities of *C. amboinicus* (Lour.) have been widely reported, including antibacterial, anti-fungal, antioxidant, anti-cancer, anti-inflammatory, anti-diabetic, antihyperlipidemic, anti-malarial, and lactagoga. The plant is also used in culinary and biogenic synthesis of nanoparticles. The exploration of this plant also extends to its endophytic microorganisms, which can produce

bioactive compounds such as antibacterial, biocontrol agent, and production of cellulase enzymes. This review provides information including botany, phytochemistry, pharmacology, biogenic synthesis, and other uses as well as exploration of its endophytic microorganisms. This article could be a source of information for further exploration of *C. amboinicus* (Lour.).

Keywords: *Coleus amboinicus* (Lour.); phytochemical profile; pharmacology; biogenic synthesis; endophyte

1. Pendahuluan

Coleus amboinicus (Lour.) merupakan salah satu tanaman dari famili Lamiaceae yang banyak digunakan dalam pengobatan secara tradisional oleh masyarakat dan telah secara luas diteliti (Arumugam *et al.*, 2016; Wadikar & Patki, 2016). Tanaman ini memiliki berbagai aktivitas farmakologi, diantaranya efek pada saluran pernapasan seperti asma, batuk, dan bronchitis (Lukhoba *et al.*, 2006), probiotik (Shubha & Bhatt, 2015), antibakteri, antioksidan (Swamy *et al.*, 2017), antikanker, antidiabetes (Govindaraju & Arulselvi, 2018), antikolesterol (Suryowati & Gultom, 2019), laktagoga (Iwansyah *et al.*, 2017), analgetik (Pane *et al.*, 2018), antiinflamasi (Muniroh *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2014), dan larvasida (Mathalaimuthu *et al.*, 2017). Hal ini dikaitkan dengan banyaknya senyawa penting atau metabolit sekunder seperti flavonoid, fenol, alkaloid, tanin, steroid dan saponin yang terdapat di dalamnya (Sujamol *et al.*, 2020). Tanaman ini terkenal akan rasa dan aroma mirip dengan oregano yang khas, menunjukkan variasi kandungan senyawa volatilnya seperti karvakrol, thymol, terpinen dan β -caryophyllen (Prudent *et al.*, 1995; Velasco *et al.*, 2009; Verma *et al.*, 2012). Salah satu studi literatur menyebutkan dalam *C. amboinicus* (Lour.) terdapat sekitar 76 senyawa volatil dan 30 senyawa non-volatil yang dapat dimasukkan ke dalam kelas fitokimia yang berbeda-beda (Arumugam *et al.*, 2016).

Metode penelitian penemuan obat modern, baik sintetis maupun semisintetis diantaranya mengacu pada senyawa aktif yang berasal dari bahan alam. Hal ini menyebabkan permintaan yang mengarah kepada eksplorasi dan eksploitasi terhadap tanaman yang memiliki aktivitas farmakologi, semakin meningkat (Alurappa *et al.*, 2018). *Coleus amboinicus* (Lour.) juga tidak hanya dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional dan kuliner (Wadikar & Patki, 2016), tetapi juga dalam penelitian hingga sintesis biogenik senyawa nanopartikel (Ramesh, *et al.*, 2020). Tanaman ini dapat menghasilkan metabolit sekunder dengan keanekaragaman kimia yang tinggi. Namun, konsentrasinya yang rendah pada tanaman, kebutuhan lahan yang luas untuk budidaya, dan proses yang panjang dalam isolasinya dapat mempengaruhi usaha produksi berbasis tanaman untuk mendapatkan senyawa tertentu (Alurappa *et al.*, 2018; Pyne *et al.*, 2019). Selain itu produksi metabolit sekunder dari tumbuhan juga dipengaruhi berbagai faktor lingkungan dan untuk sebagian besar tanaman, perubahan pada faktor individu dapat mengubah kandungan metabolit sekunder bahkan jika faktor lain tetap konstan (Yang *et al.*, 2018). Salah

satu strategi untuk mengurangi eksploitasi tanaman secara langsung adalah dengan isolasi endofit dari suatu tanaman yang dapat menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan inangnya (Radji, 2005). Contohnya adalah senyawa taxol yang dikenal sebagai antikanker dan diisolasi dari floem *Taxus brevifolia*. Minimnya produksi taxol dari batang *Taxus brevifolia* (0,01-0,03%) dan pertumbuhan yang lambat, memicu eksploitasi yang dapat mengancam kelestarian tumbuhan tersebut. Hingga akhirnya *Taxomyces andreanae*, jamur endofit dari *Taxus brevifolia*, diisolasi sebagai alternatif penghasil taxol (Stierle & Strobel, 1993). Mikroba endofit diketahui dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang karakternya mirip atau sama dengan inangnya dikarenakan adanya pertukaran genetik antar keduanya (Tan & Zou, 2001).

Penelitian yang telah dilakukan terhadap tanaman *C. amboinicus* (Lour.) meliputi banyak aspek diantaranya meliputi morfologi, kandungan fitokimia, serta aktivitas farmakologi maupun pemanfaatan lainnya dalam berbagai bidang. Penelitian mengenai penelusuran endofit sebagai alternatif penghasil senyawa aktif dalam *C. amboinicus* (Lour.) juga telah dilakukan. Review ini merupakan survei informasi yang dikumpulkan, dikaji dan diharapkan dapat menjadi sumber informasi untuk pengembangan potensi *C. amboinicus* (Lour.) yang semakin meluas.

2. Metode

Metode yang digunakan dalam review ini berupa studi literatur yang dilakukan dengan menelusuri informasi yang diperoleh dari database seperti Google Scholar, Scopus, Science Direct, PubMed dan lainnya. Literatur yang telah dipublikasi dalam bentuk abstrak, laporan, prosiding, review dan artikel hasil penelitian yang terkait dengan fitokimia, aktivitas farmakologi, pemanfaatan *C. amboinicus* (Lour.) dalam bidang lain serta endofit yang terkandung di dalamnya dikaji, dianalisis dan kemudian disusun sesuai dengan tujuan penulisan.

3. Morfologi Tanaman

Tanaman *C. amboinicus* (Lour.) merupakan tanaman yang dapat ditemukan di berbagai belahan dunia baik Afrika, Asia hingga Amerika latin. Di Indonesia *C. amboinicus* (Lour.) dikenal sebagai tanaman jinten, sementara di daerah lain dikenal dengan banyak nama, diantaranya daun bangun – bangun atau torbangun, Oregano, *Five season herb*, *Broad-leaf thyme*, *Patharchur*, *Indian borage* (Khan, 2013; Wadikar & Patki, 2016). Tanaman ini memiliki beberapa sinonim, diantaranya *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng., *Plectranthus aromaticus* Roxb., *Coleus aromaticus* Benth, dan *Coleus suborbiculata* Zoll. & Mor. Menarik untuk diketahui, bahwa dengan adanya jenis spesimen yang dikumpulkan di Ambon, Maluku, menjadi awal mula nama spesies *amboinicus* (Arumugam *et al.*, 2016).

Coleus amboinicus (Lour.) merupakan tumbuhan semak yang termasuk ke dalam keluarga mint Lamiaceae, dengan tinggi mencapai 0,5 hingga 1 m, daun berbentuk jantung dengan tepi berkontur kasar dan bergerigi. Daunnya berwarna hijau terang dan berambut, sangat aromatis, berasa agak pahit hingga pedas dengan panjang maksimal 6,5 cm dan lebar maksimal 6 cm. Permukaan atas dan bawah daun memiliki trikoma dan permukaan atas memiliki kutikula. Trikoma berbentuk *uniseriate*, multiselular dengan *acute* dibagian *apex*, bagian basal trikoma melebar, yang dibangun oleh 2-3 sel (Hullatti & Bhattacharjee, 2011; Khan, 2013). Batangnya yang berdaging dan berambut, berwarna hijau hingga merah muda, memiliki karakter aromatis, berasa sedikit pahit hingga pedas dan panjang sekitar 70-80 cm. Akar berwarna coklat dan memiliki aroma serta rasa yang aromatis (Hullatti & Bhattacharjee, 2011). Tanaman *C. amboinicus* (Lour.) memiliki bunga berwarna ungu, dengan panjang 3-4 mm, yang berada pada batang pendek (bertangkai pendek), dalam rumpun panjang ramping yang tegak (Khan, 2013). Bijinya halus, berwarna coklat pucat, pipih bulat. Tanaman ini jarang berbiji sehingga biasanya diperbanyak secara vegetatif dengan stek batang (Arumugam *et al.*, 2016).

Pada tanaman *C. amboinicus* (Lour.) terdapat trikoma kelenjar tipe kapitat yang paling banyak ditemui pada helai daun di bagian permukaan adaksial dan abaksial nodus ke 1, jika dibandingkan dengan 2 tanaman lain dari genus yang sama, *Coleus scutellarioides*, dan *Coleus tuberosus* (Sulistiyowati *et al.*, 2018). Trikoma kelenjar merupakan struktur sekretori eksternal yang diketahui berperan dalam mekanisme pembentukan dan sekresi metabolit sekunder pada tumbuhan (Ma *et al.*, 2016). Sementara pada tanaman *C. amboinicus* (Lour.), trikoma kelenjar dikaitkan dengan produksi minyak atsirinya (Sulistiyowati *et al.*, 2018).

4. Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan langkah awal untuk memisahkan senyawa bahan alam yang diinginkan dari bagian tumbuhan. Metode ekstraksi yang umum adalah ekstraksi pelarut dengan prinsip dasar penggunaan pelarut cair untuk mengekstrak senyawa kimia tertentu dari padatan atau matriks cair (Zhang *et al.*, 2018). Beberapa metode ekstraksi telah digunakan untuk mengekstraksi senyawa kimia dari *C. amboinicus* (Lour.).

Metode ekstraksi yang umum digunakan dalam proses ekstraksi *C. amboinicus* Lour. adalah maserasi (Muniroh *et al.*, 2013; Rai *et al.*, 2016; Swamy *et al.*, 2017; Hasibuan & Sumaiyah, 2019). Cara ini sederhana dan efektif untuk mengekstraksi bioaktif senyawa dari tanaman dengan biaya yang murah, namun memiliki kekurangan dengan diperlukannya sejumlah besar pelarut dan proses yang lebih lama (Buanasari *et al.*, 2017). Sementara El Hawary *et al.* (2012) memilih menggunakan metode perkolasi. Metode ini lebih efisien

daripada maserasi karena adanya proses berkelanjutan dengan penggantian pelarut jenuh dengan pelarut segar secara terus-menerus (Zhang *et al.*, 2018).

Metode ekstraksi dengan pemanasan menunjukkan adanya senyawa yang terdeteksi dalam *Coleus amboinicus* (Lour.) yang lebih banyak seperti pada metode decocta (Shubha & Bhatt, 2015; Pane *et al.*, 2018) dan soxhletasi (Mathalaimuthu *et al.*, 2017; Sulaiman *et al.*, 2018). Hal ini dikaitkan dengan efektivitas ekstraksi pada suhu tinggi yang akan meningkatkan solubilitas dan laju difusi analit ke dalam pelarut. Ekstraksi Soxhlet adalah metode ekstraksi kontinu otomatis dengan efisiensi tinggi yang membutuhkan lebih sedikit waktu dan konsumsi pelarut daripada maserasi atau perkolasi (Zhang *et al.*, 2018).

Coleus amboinicus Lour. merupakan tanaman aromatis yang dikenal akan kandungan minyak esensialnya. Destilasi air dan destilasi uap adalah metode yang umum digunakan untuk ekstraksi minyak atsiri. Metode destilasi air cenderung lebih sering digunakan dalam ekstraksi minyak esensial dari *C. amboinicus* (Lour.) (Gonçalves *et al.*, 2012; Thirugnanasampandan *et al.*, 2015; Govindaraju & Arulselvi, 2018) dibandingkan destilasi uap (Prudent *et al.*, 1995). Bezerra *et al.*, (2017) melakukan evaluasi pemilihan teknik destilasi minyak esensial dari daun *C. amboinicus* (Lour.) di Brazil yang menunjukkan efisiensi perolehan tertinggi sebesar 0,2371% untuk destilasi air dan hanya 0,0109% untuk destilasi uap.

Teknik baru dengan penggunaan teknologi dalam metode ekstraksi juga pernah dilakukan terhadap *C. amboinicus* (Lour.) seperti teknik ekstraksi cairan bertekanan atau *Pressurized Liquid Extraction* (PLE) (Laila *et al.*, 2020b) dan metode sonikasi (Tafzi *et al.*, 2017). Dalam metode PLE terjadi penurunan kebutuhan pelarut, peningkatan efektivitas penetrasi dan kelarutan zat terlarut dalam pelarut dengan adanya tekanan tinggi yang menjaga pelarut organik dalam fase cair meski terjadi peningkatan suhu (Kellogg *et al.*, 2017). Sementara metode sonikasi dapat dilakukan dalam waktu yang jauh lebih singkat, kurang dari 1 jam, dengan efek kerusakan yang dapat diminimalkan (Chemat *et al.*, 2017). Prinsip metode sonikasi melibatkan prinsip kavitas akustik yang mampu merusak dinding sel dari matriks tumbuhan yang mendukung pelepasan senyawa bioaktif (Medina-Torres *et al.*, 2017).

Teknik ekstraksi yang baik diperlukan untuk mendapatkan senyawa aktif. Metode yang efektif dan selektif juga perlu diperhatikan untuk proses ekstraksi dan isolasi senyawa bioaktif. Selain itu, juga perlu dilakukan pemilihan penggunaan berbagai pelarut yang cocok untuk mengekstraksi metabolit tanaman yang diinginkan. Polaritas pelarut yang berbeda dapat memberikan variasi dalam distribusi golongan senyawa, seperti halnya golongan terpenoid dan steroid yang cenderung tertarik ke dalam pelarut non polar, sementara senyawa fenolik, glikosida dan flavonoid dapat ditarik oleh pelarut polar (Januarti *et al.*, 2019).

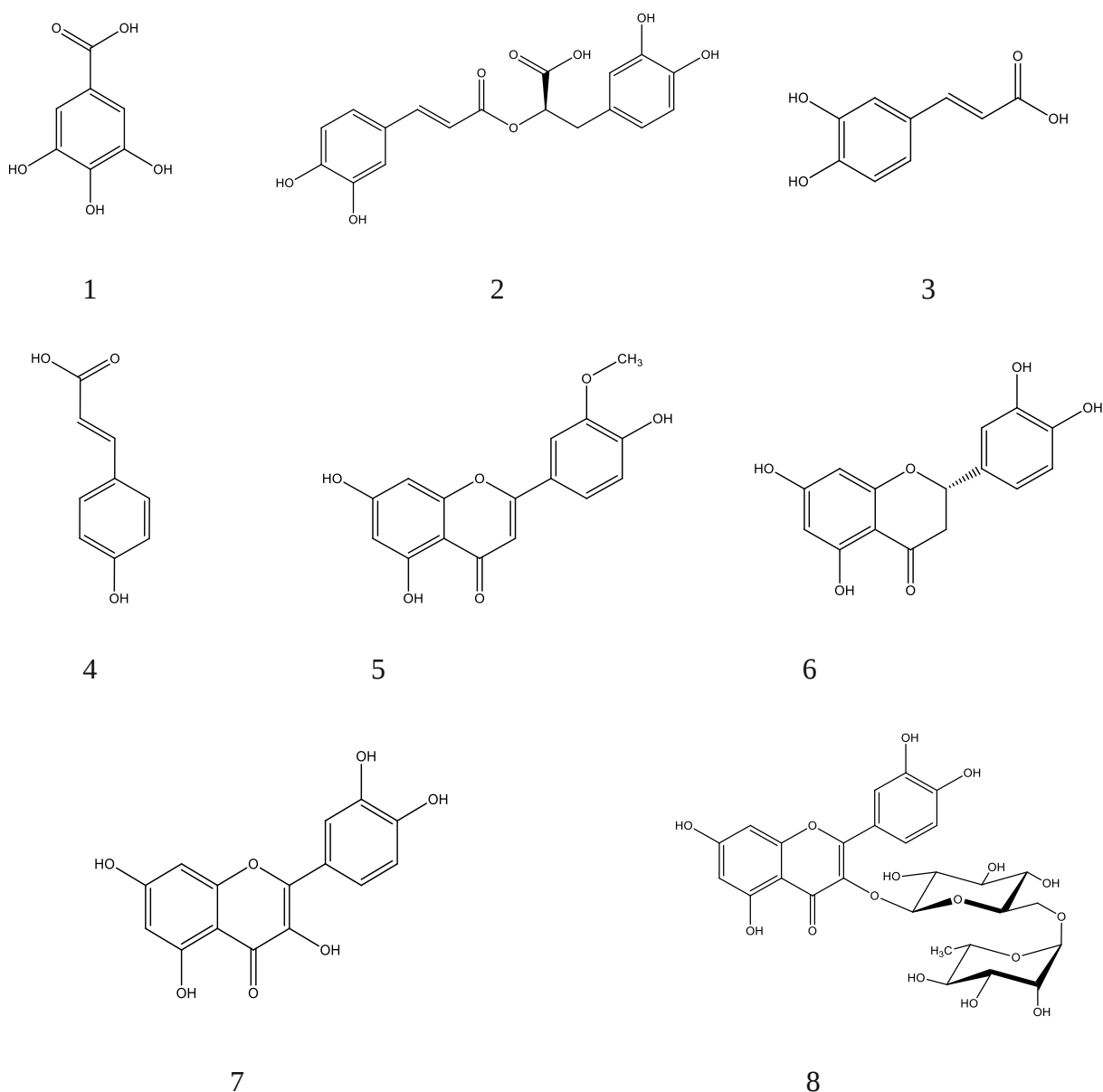
5. Fitokimia

Literatur menunjukkan bahwa komponen yang berhasil diidentifikasi dari tanaman *C. amboinicus* (Lour.) termasuk ke dalam berbagai golongan fitokimia seperti monoterpenoid, diterpenoid, triterpenoid, seskuiterpenoid, fenolik, flavonoid, ester, alkohol dan aldehid (Arumugam *et al.*, 2016). El Hawary *et al.* (2013) mengidentifikasi adanya 74 senyawa volatil yang terdeteksi dalam daun *C. amboinicus* (Lour.) dan 61 senyawa dalam batangnya, selama 4 musim. Penelitian Tafzi *et al.* (2017) menunjukkan adanya senyawa bioaktif seperti saponin, steroid, tanin dan terpenoid pada analisis fitokimia ekstrak metanol dari serbuk daun dan sebagian batang *C. amboinicus* (Lour.) yang tumbuh sekitar 10-20 cm dari pucuk. Sementara, Sujamol *et al.* (2020) mendeteksi adanya alkaloid, saponin, steroid, tanin, terpenoid, senyawa fenolik dan gula pereduksi dalam ekstrak metanol daun *C. amboinicus* (Lour.). Ekstraksi terhadap daun *C. amboinicus* menggunakan pelarut metanol dan heksana memberikan perolehan jumlah ekstrak yang lebih banyak dibandingkan aseton (Swamy *et al.*, 2017).

Variasi dalam penggunaan metode ekstraksi, pelarut, bagian tanaman serta metode analisis yang digunakan dapat berpengaruh terhadap profil fitokimia dan jenis senyawa yang berhasil teridentifikasi (Tabel 1). Sulaiman *et al.* (2018) mengkarakterisasi senyawa polifenol dari daun *C. amboinicus* (Lour.) dan melaporkan kadar total fenolik, flavonoid dan tanin yang paling tinggi terdapat pada ekstrak etanol, dibandingkan dengan ekstrak aseton dan n-butanol. Hullatti dan Bhattacharjee (2011) melaporkan kadar total fenolik, flavonoid, alkaloid dan saponin dari ekstrak daun, batang dan akar tanaman *C. amboinicus* (Lour.). Posisi terbanyak dimiliki oleh ekstrak daun dengan kadar total fenolik $19,62 \pm 0,83$; flavonoid $4,21 \pm 0,39$; alkaloid $4,3 \pm 0,74$ dan saponin $2,09 \pm 0,33$ (%^{b/b}) diikuti ekstrak batang dan ekstrak akar. Sementara untuk kadar total tanin yang dilaporkan, ditemukan paling tinggi pada ekstrak akar ($126 \mu\text{g/g}$), diikuti oleh daun ($90 \mu\text{g/g}$) dan ekstrak batang ($81 \mu\text{g/g}$), ekuivalen terhadap asam tanat (El-Hawary *et al.*, 2012).

Bagian tanaman, iklim, kondisi lingkungan pertumbuhan tanaman, metode ekstraksi, dan jenis pelarut yang berbeda, bertanggung jawab atas variasi kandungan fenolik dan flavonoid dalam sampel tanaman. Kadar fenolik total dan flavonoid yang diperoleh dari ekstrak *C. amboinicus* (Lour.) dalam metanol secara berturut-turut adalah $42,17 \pm 2,96 \text{ mg GAE/g}$ dan $11,20 \pm 0,58 \text{ mg QE/g}$ (Laila *et al.*, 2020b). Penelitian Bhatt *et al* (2013) melaporkan bahwa dari ekstrak metanol batang *C. amboinicus* (Lour.) diperoleh total fenolik sebanyak $49,91 \text{ mg GAE/g}$ dan total flavonoid $26,6 \text{ mg/ RE g}$. Sementara kandungan fenolik total yang diperoleh dari ekstrak air panas *C. amboinicus* (Lour.) yang ditumbuhkan di India adalah sebesar 313 mg GAE/g dan kandungan flavonoid 243 mg RE/g . Sedangkan *C. amboinicus* yang tumbuh di

Mesir menunjukkan kandungan fenolik total pada ekstrak etanol batang, daun, dan akar, masing-masing adalah 9,6; 8,4; dan 9,4 mg GAE/g (El-Hawary *et al.*, 2012). Kadar fenolik total dari ekstrak metanol *C. amboinicus* (Lour.) menunjukkan kadar >40 mg GAE/g, sementara kandungan flavonoid yang diperoleh cukup bervariasi.



Gambar 1. Beberapa senyawa kimia non volatil dari *C. amboinicus*. 1. Asam galat, 2. Asam rosmarinat, 3. Asam kumarat, 4 Asam kafeat, 5. Krisoeriol, 6. *Eriodictyol*, 7. Quercetin, 8. Rutin (Arumugam *et al.*, 2016).

Tabel 1. Komponen senyawa non volatil yang teridentifikasi dari tanaman *C. amboinicus* (Lour.)

No	Metode ekstraksi	Pelarut	Bagian Tanaman	Senyawa Teridentifikasi	Metode Analisis	Referensi
1	Perkolasi	Etanol	Daun Akar Batang	Asam kafeat, asam rosmarinat, asam kumarat Asam kafeat, asam rosmarinat, asam kumarat, krisoeriol Asam kafeat, asam rosmarinat, asam kumarat, krisoeriol, <i>eriodictiol</i> , luteolin, quercetin	UPLC-MS	(El-Hawary <i>et al.</i> , 2012)
2	Maserasi dengan pengadukan	Metanol	Batang Daun	Asam rosmarinat, asam kafeat, rutin, asam galat, quercetin, <i>p</i> -asam kumarat Asam rosmarinat, asam kafeat, <i>p</i> -asam kumarat, quercetin	HPLC	(Bhatt <i>et al.</i> , 2013)
3	Homogenasi Centrifugasi	Aquadest	Daun dan batang	2-(3,4-dihidroksibenzildienil-3-(3,4-dihidroksi fenil)-4-, asam hidroksi pentanadioat, asam shimobashiric, asam salvianolic l, asam rosmarinat, <i>thymoquinone</i>	HPLC	(Chen <i>et al.</i> , 2014)
4	Decocta	Aquadest	Daun	Asam galat, asam klorogenat, asam kafeat, asam kumarat, rutin, asam rosmarinat	HPLC	(Shubha & Bhatt, 2015)
5	Soxhletasi	Etanol	Daun	Asam kuinat, asam ferulat, asam vanilat, asam siringat, asam kafeat, metil galat, <i>protocatechuic acid</i> , <i>caffeoylquinic acid</i> , galokatekol, asam elagik, glikosida asam salisilat, <i>sinapic acid</i> heksose, vicienin 1	LC-ESI-MS/MS	(Sulaiman <i>et al.</i> , 2018)
6	Accelerate solvent Extractor (ASE)	Metanol	Daun	7-hidroksikumarin, l(-)-asam malat, asam pipecolat, cis-5,8,11,14,17- <i>eicosapentaenoic acid</i> , asam ferulat, apigenin 7-o-glukuronida, 15-eoksi- δ 12,14-prostaglandin a1, asam 4-hidroksibenzoat, α -lactosa, asam (2 α ,3 β ,19 α)-2,3,19-trihidroksiolean-12-en-28-oat, asam 1-aminosikloheksa karboksilat, asam salvianolic b, asam 9s,13r-12-oksofitodienoat, asam kafeat, asam 9-oxo-10(e),12(e)-okdadekadinoat, betain, asam α -linolenat	LC UHPLC-HRMS	(Laila, <i>et al.</i> , 2020a)

Senyawa fenolik yang paling sering ditemui seperti asam rosmarinat, asam kafeat dan asam kumarat sebagaimana disebutkan pada Tabel 1, dapat ditemukan pada bagian daun, batang dan akar (Bhatt *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2014; Shubha & Bhatt, 2015). Ketiga senyawa ini juga tetap dapat ditemukan dalam ekstrak dengan berbagai variasi solven polar seperti metanol, etanol maupun aquadest. Menarik untuk dicermati bahwa terdapat senyawa flavonoid, quercetin yang dapat ditemukan pada bagian batang maupun daun *C. amboinicus* (Lour.) (Bhatt *et al.*, 2013), namun tidak terdapat pada bagian akar (El-Hawary *et al.*, 2012). Selain itu, juga terdapat beberapa flavonoid lain seperti rutin, krisoeriol dan *eriodictyol*. Struktur dari senyawa-senyawa fenolik dan flavonoid yang secara umum ditemukan pada berbagai ekstrak *C. amboinicus* (Lour.) dengan variasi solven sebagaimana pada Tabel 1, dapat dilihat pada Gambar 1.

Laila *et al* (2020b) melaporkan kandungan senyawa kimia yang teridentifikasi dalam ekstrak metanol *C. amboinicus* (Lour.) adalah gula, hidrokarbon, keton, terpena, fenolat, asam lemak, alkohol lemak, steroid, alkaloid, dan lain-lain, dengan kandungan utama berupa senyawa fenolik, alkana, dan gula. Asam kafeat, salah satu senyawa bioaktif yang teridentifikasi, terdeteksi hampir di semua fraksi. Lima terpena utama yang diidentifikasi dari GC-MS menggunakan PLE adalah α -amyrin, asam dehidroabietic, asam geranat, asam isopimaric, dan thymol. Analisis yang berbeda menggunakan LC-MS/MS terhadap ekstrak metanol daun *C. amboinicus* (Lour.) mengidentifikasi senyawa yang sering ditemukan seperti asam kafeat dan asam rosmarinat. Sementara beberapa senyawa lain seperti asam malat, asam cis-5,8,11,14,17-eicosapentanoat (EPA), benserazid, asam α -linolenat, betain, salvianolic b, asam 4-hidroksibenzoat, dan asam firulat juga turut terdeteksi (Laila *et al*, 2020a). Sebagaimana diketahui, bahwa analisis menggunakan GC-MS akan memisahkan senyawa berdasarkan volatilitasnya, sementara pada LC-MS/MS memiliki rentang separasi kromatografi yang lebih luas. Adanya perbedaan metode analisis komponen senyawa yang dilakukan, menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun *C. amboinicus* (Lour.) dari dua metode analisis yang berbeda, dapat memberikan perbedaan terhadap senyawa yang dideteksi.

Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)-MS digunakan untuk analisis dengan resolusi tinggi, mengidentifikasi adanya asam rosmarinat, krisoeriol, asam kafeat dan asam kumarat dalam fraksi etil asetat batang dan akar *C. amboinicus* (Lour.). Namun senyawa *eriodictyol*, luteolin dan quercetin hanya ditemukan pada fraksi etil asetat batang (El-Hawary *et al.*, 2012). Analisis ekstrak metanol batang *C. amboinicus* (Lour.) yang dilakukan Bhatt *et al* (2013) dengan HPLC menunjukkan adanya beberapa molekul antioksidan yang diketahui, yaitu asam rosmarinat (6,160 mg), asam kafeat (0,770 mg), rutin (0,324 mg), asam galat (0,260 mg), quercetin (0,15 mg), dan p-asam kumarat (0,104 mg) per gram ekstrak kering. Sementara

ekstrak metanol daun menunjukkan adanya asam rosmarinat (0,0573 mg), asam kafeat (0,056 mg), asam p-kumarat (0,0746 mg), dan quercetin (3,99 mg) per gram ekstrak kering. Rutin dan asam galat tidak ditemukan dalam ekstrak metanol daun *C. amboinicus* (Lour.).

Studi literatur menunjukkan bahwa peralatan yang digunakan dalam menganalisis senyawa, termasuk *library data* juga berperan penting dalam proses analisis. Semakin luas cakupan analisis suatu alat, tentunya memberikan cakupan deteksi senyawa yang juga semakin banyak. Sementara itu, adanya variasi solven, metode ekstraksi dan bagian yang diekstraksi, juga dapat mempengaruhi keberadaan suatu senyawa dalam ekstrak tanaman. Seperti halnya analisis metabolomik berbasis NMR antara spesimen *C. amboinicus* yang ditanam di Jepang dan Indonesia. Analisis menggunakan metode HPLC-MWD menunjukkan bahwa sampel Jepang mengandung konsentrasi total flavonoid spesifik yang lebih tinggi dibandingkan dengan sampel Indonesia dengan kandungan masing-masing secara berurutan yaitu $1100,6 \pm 5,1$ dan $532,4 \pm 1,8$ $\mu\text{g/g}$ luteolin, serta $584,5 \pm 7,4$ dan $571,7 \pm 11,6$ $\mu\text{g/g}$ apigenin. Namun, senyawa eriodictiol hanya terdeteksi pada sampel Indonesia (Yuliana *et al.*, 2018). Hal ini menunjukkan bahwa meskipun terdapat kesamaan pada bagian yang digunakan, metode ekstraksi, maupun peralatan analisis senyawa yang sama, keragaman metabolit senyawa pada suatu tanaman masih tetap dapat terjadi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yang *et al* (2018), yang menyatakan bahwa keberagaman metabolit sekunder pada suatu tanaman, juga dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan seperti cahaya, suhu, air tanah, kesuburan tanah dan salinitas. El Hawary *et al* (2013) menyebutkan ada sekitar 74 senyawa yang terdapat dalam minyak esensial yang berasal dari daun *C. amboinicus* (Lour.) dan sekitar 61 senyawa yang terdapat pada batang dari pengumpulan sampel selama 4 musim. Variabilitas komposisi minyak atsiri yang dilaporkan dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti lingkungan, keanekaragaman genetik, bagian tanaman yang digunakan untuk ekstraksi minyak, maupun metode dan proses ekstraksi (Govindaraju & Arulselvi, 2018). Dalam Tabel 2 dapat teramati adanya perbedaan dalam 3 komponen volatil utama yang diperoleh dari tanaman *C. amboinicus* (Lour.) dari beragam tempat geografis. Mayoritas penelitian menunjukkan bahwa senyawa karvakrol sebagai salah satu senyawa dari 3 komponen volatil utama yang diperoleh, namun survei penelitian menunjukkan masih terdapat variasi konsentrasi yang luas dari karvakrol (Khan, 2013; Arumugam *et al.*, 2016). Meskipun demikian, penelitian Aguiar (2015) di Crato-Ceará, Brazil, justru tidak mendeteksi adanya komponen karvakrol.

Tabel 2. Komponen utama senyawa volatil tanaman *C. amboinicus* (Lour.) dari berbagai negara

No	Negara Asal	Metode Ekstraksi	Pelarut	Bagian tanaman	3 komponen teratas	Metode analisis
1	Mauritius	Destilasi air		Daun	Karvakrol (41,3%), Camphora (39%), Terpinen-4-ol (2,4%) Total: 24 senyawa	GC-MS (Gurib-Fakim <i>et al.</i> , 1995)
2	Martinique	Destilasi uap Soxhletasi	 Diklorometan	Daun	Karvakrol (72,17%), β -caryophyllen (11,09%), Trans- α -bergamoten (5,05%) Total: 20 senyawa Karvakrol (62,55%), B-caryophyllene (8,79%), Trans- α -bergamoten (5,91%) Total: 20 senyawa	GC-MS (Prudent <i>et al.</i> , 1995)
3	Venezuela	Destilasi air		Daun	Karvakrol (65,2 %), p-cymene (8,5 %), γ -terpinen (10,0 %) Total :15 senyawa	GC-MS (Velasco <i>et al.</i> , 2009)
4	Kartanaka, India	Destilasi air		Bunga Bagian tanaman di permukaan tanah	Karvakrol (50,98%), β -caryophyllen (21,54%), Trans α -bergamoten (17,73%) Total: 4 senyawa Karvakrol (77,16%), β -caryophyllene (5,74%) caryophyllen oksida (3,72%) Total 12: Senyawa	GC-FID dan GC-MS (Joshi <i>et al.</i> , 2011)
5	Uttarakhand, India	Destilasi air		Bagian tanaman di permukaan tanah	thymol (57,7-66,4 %), γ -terpinen (5,8-11,7 %), p-cymene (4,1-14,2 %) Total: 44 senyawa	GC-FID dan GC-MS\ (Verma <i>et al.</i> , 2012)
6	Kepulauan Komoro	Destilasi air		Daun	Karvakrol (23,0 %), camphor (22,2 %), Δ -3-carene (15,0 %) Total : 27 senyawa	GC-MS (Hassani <i>et al.</i> , 2012)
7	Mbarara, Uganda	Direbus 30 menit dan dilanjutkan <i>Head Space Solid Phase Microextraction</i> (HS-SPME)	Polydimetilsiloxane/ divinylbenzene (PDMS/DBV)	Daun	Linalool (50,3 %), Karvakrol (14,34), Geranil asetat (11,7 %) Total: 11 senyawa	GC-MS (Asiimwe <i>et al.</i> , 2014)
8	Mesir	Destilasi air		Bagian tanaman di permukaan tanah	Karvakrol (13,4%), Thymol (11,7%), Caryophyllen oksida (11,5%), α -humulen (11,5%) Total: 18 senyawa	GC-MS (Khalid & El-Gohary, 2014)

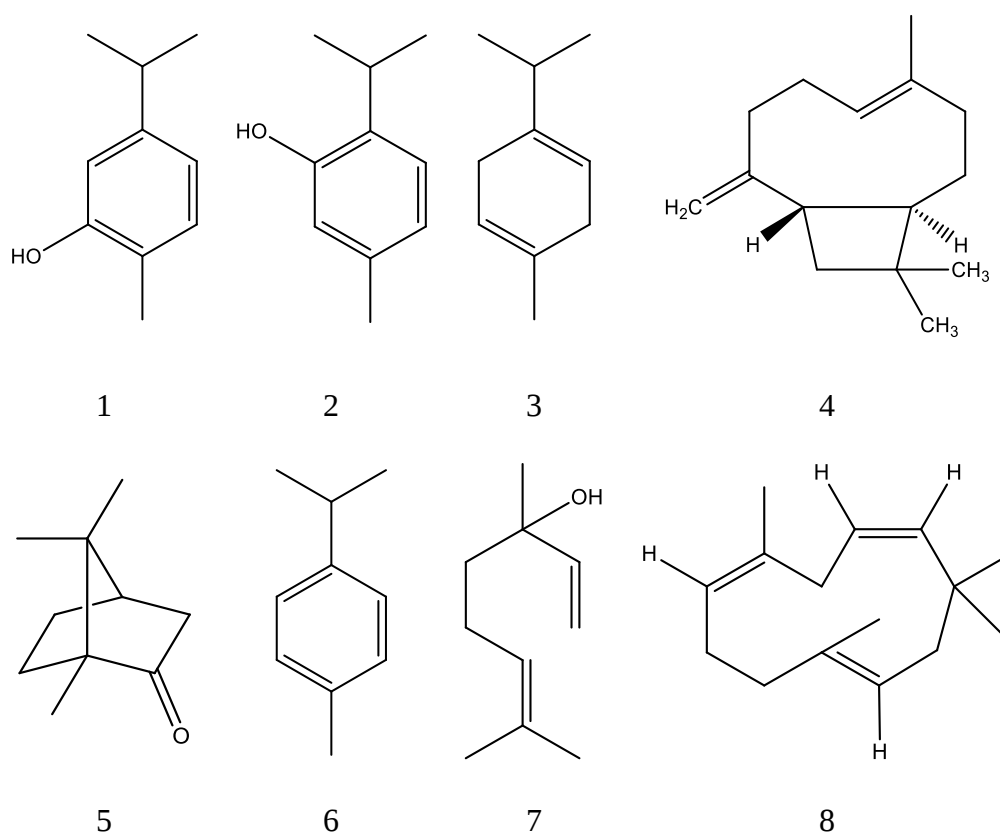
Tabel 2. Komponen utama senyawa volatil tanaman *C.amboinicus* (Lour.) dari berbagai negara (Tabel lanjutan).

No	Negara Asal	Metode Ekstraksi	Pelarut	Bagian tanaman	3 komponen teratas	Metode analisis
9	Crato-Ceará, Brazil	Destilasi air		Daun	Germacrene-D (38,60%), (E)-Caryophyllen (18,91%), Copaene (8,03%) Total: 11 senyawa	GC-MS (Aguiar <i>et al.</i> , 2015)
10	Apodi, Rio Grande, Brazil	Destilasi air		Daun	Karvakrol (40,0%), Caryophyllen (17,2%), α -bergamotene (11,7%) Total: 13 senyawa	GC-MS (Bezerra <i>et al.</i> , 2017)
		Destilasi uap		Daun	Karvakrol (46,8%), Caryophyllene (4,3%), α -bergamotene (2,4%) Total: 11 senyawa	
11	Selangor, Malaysia	Maserasi	Metanol	Daun	Tetracontane (16,6%) tetrapentacontane 11,3%), Pentacosane (7,8%) Total: 19 senyawa	GC-MS (Swamy <i>et al.</i> , 2017)
			Aseton	Daun	Phytol (12,9%), Squalene (15,6%), β -amyirin (5,3%) Total: 11 senyawa	
			Heksana	Daun	Karvakrol (37,7%), Tetrapentacontane (13,7%), Tetratriacontane (8,8%) Total: 16 senyawa	
12	Namakkal district, India	Destilasi air		Daun	Karvakrol, (27,91%), dodecane (12,835%), β -stigmasterol (7,58%) total: 13 senyawa	GC-MS (Govin daraju & Arul selvi, 2018)
13	Taipei	Destilasi air		Daun	Karvakrol (50,0%), γ -terpinene (13,1%), β -caryophyllene (11,3%) Total: 43 senyawa	GC-FID and GC-MS (Hsu & Ho, 2019)
14	Kuba	Destilasi air		Bagian tanaman di permukaan tanah	Karvakrol (71 %), p-cymene (9,7 %), γ -terpinene (4,3 %) Total: 21 senyawa	GC-MS (Monzote <i>et al.</i> , 2020)

Analisis *agglomerative hierarchical cluster* (AHC) telah dilakukan terhadap 37 komponen volatil dari *C. amboinicus* yang dilaporkan dalam literatur. Proses ini mengelompokkan *C. amboinicus* ke dalam 3 kemotipe, yaitu kemotipe tinggi karvakrol, kemotipe tinggi thymol, dan kemotipe rendah karvakrol/thymol (Monzote *et al.*, 2020). Hasil yang didapatkan cukup menarik, dimana distribusi kemotipe terjadi secara acak di berbagai belahan dunia dan tidak bergantung pada lokasi geografis. Dalam penelitian tersebut terlihat bahwa ketiga kemotipe teramati pada sampel dari Brazil dan India, sedangkan kemotipe tinggi karvakrol belum dilaporkan di Mesir. Pada Tabel 2 juga terlihat bahwa meskipun sama-sama berasal dari India, daerah Namakkal, Uttarakhand dan Kartanaka, menunjukkan komponen terbesar yang berbeda-beda, berikut secara berturut-turut yaitu karvakrol (27,91%); thymol (57,7-66,4%), dan karvakrol (77,16%) (Joshi *et al.*, 2011; Verma *et al.*, 2012; Govindaraju & Arulselvi, 2018). *C. amboinicus* (Lour.) yang berasal dari negara kepulauan Komoro dan Mauritius, di Afrika Timur, menunjukkan kesamaan pada dua komponen mayornya, yaitu karvakrol dan diikuti dengan camphor (Gurib-Fakim *et al.*, 1995; Hassani *et al.*, 2012). Sementara pada benua Afrika di Mbarara, Uganda, justru menunjukkan linalool (linalool (50.3%) sebagai senyawa utama, diikuti oleh karvakrol (14.34%) (Asiimwe *et al.*, 2014). Beberapa struktur senyawa yang sering didapati sebagai komponen utama dari minyak esensial *C. amboinicus* (Lour.) dapat dilihat pada Gambar 2.

Menarik untuk dicermati bahwa proses pengumpulan sampel untuk diekstraksi di daerah Uttarakhand dilakukan selama musim dingin (Verma *et al.*, 2012). Selain itu, pengumpulan juga dilakukan di tengah perbukitan pada bulan Desember dan Januari. Perolehan minyak esensial rata-rata di bulan Desember sebesar 0,10% dan 0,20% di bulan Januari. Ini bisa terjadi karena kondisi cuaca dingin yang mempengaruhi kondisi daun. El-Hawary *et al.* (2013) melaporkan produksi minyak esensial dari daun dan batang *C. amboinicus* (Lour.) di Giza, Mesir. Proses pengumpulan dilakukan selama 4 musim, yaitu musim dingin, musim semi, musim panas dan musim gugur, dengan persentase perolehan secara berurutan pada daun : 0,03%; 0,12%; 0,08%; 0,08% dan batang : 0,01%; 0,13%; 0,09%; 0,09%. Sementara Bezzera *et al* (2017) melaporkan hal yang mirip, dimana produksi minyak esensial dari daun *C. amboinicus* (Lour.) di Apodi, Brazil pada bulan Januari, April, Juli dan Oktober masing-masing 0,0117%; 0,0512%; 0,2371%; 0,0386%. Mereka juga melaporkan adanya variasi komponen seperti humulen yang hanya terdeteksi pada bulan April, atau *caryophyllen* yang justru tidak terdeteksi hanya pada bulan Januari. Selain itu juga ditemui bahwa terdapat variasi konsentrasi dari karvakrol, yang mana persentase paling besar diperoleh di bulan April (74,3%). Kedua penelitian ini dilakukan pada tempat berbeda dan menunjukkan adanya perbedaan dari kuantitas

produksi dan variasi komponen selama musim tertentu. Khalid dan El-Ghohary (2014) melaporkan dari total 95,4-99,9% minyak esensialnya, dengan 18 komponen senyawa, terbagi menjadi 4 kelas, yaitu monoterpen teroksigenasi, monoterpen hidrokarbon, sesquiterpen hidrokarbon dan sesquiterpen teroksigenasi. Komponen monoterpen dan sesquiterpen teroksigenasi berada pada konsentrasi tertinggi selama musim panas, dengan nilai 62,3 dan 11,5%. Sementara monoterpen hidrokarbon meningkat pada musim dingin (31,4%) sedangkan sesquiterpen hidrokarbon pada musim gugur (22%). Pemilihan bagian tanaman yang diekstraksi juga dapat memberikan variasi dalam komposisi minyak. Analisis komponen yang dilakukan Joshi *et al.* (2011) terhadap bagian bunga, menunjukkan karvakrol (50,98%), β -caryophyllen (21,54%) dan trans α -bergamoten (17,73%) dengan total 4 senyawa. Sedangkan bagian atas tumbuhan menunjukkan senyawa karvakrol (77,16%), β -caryophyllen (5,74%) dan caryophyllene oksida (3,72%) dari total 12 senyawa.



Gambar 2. Struktur beberapa senyawa kimia volatil dari *C. amboinicus*. 1. Karvakrol, 2. Thymol, 3. γ -terpinen, 4. β -Caryophyllen, 5. Camphora, 6. p-cymene, 7. Linalool, 8. α -Humulen (Arumugam *et al.*, 2016)

Teknik ekstraksi yang baik diperlukan untuk mendapatkan senyawa aktif sebanyak mungkin. Karena kandungan senyawa yang sangat tinggi pada tumbuhan yang memiliki sifat fisik dan polaritas yang beragam, maka tidak mungkin hanya menggunakan satu jenis pelarut (Laila *et al.*, 2020b). Meskipun demikian, dilaporkan bahwa sifat biologis tidak hanya

bergantung pada hasil ekstrak total tetapi juga pada komposisi fitokimianya (Swamy *et al.*, 2017). Berdasarkan bobot kering daun, destilasi air *C. amboinicus* (Lour.) dapat menghasilkan minyak berwarna kuning dengan rendemen $0,58 \pm 0,03$ mL/100 g (Hsu & Ho, 2019). Sementara berdasarkan pemilihan teknik destilasi minyak esensial dari daun *C. amboinicus* (Lour.) di Brazil pada bulan Juli, menunjukkan efisiensi perolehan sebesar 0,2371% untuk destilasi air dan hanya 0,0109% untuk destilasi uap (Bezerra *et al.*, 2017).

6. Aktivitas Farmakologi

Sifatnya yang aromatik dan kemampuan memproduksi minyak atsiri menjadikan pemanfaatan tanaman jinten cukup bervariasi, diantaranya sebagai penyedap, atau dimasukkan sebagai bahan dalam persiapan makanan tradisional serta berbagai aktivitas farmakologi. Berikut adalah beberapa aktivitas farmakologinya yang telah diteliti dan dilaporkan baik secara *in vitro*, *in vivo* maupun uji klinis.

6.1. Antibakteri

Minyak esensial dari daun dan batang *C. amboinicus* (Lour.) dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *E. coli*, dan *Klebsiella pneumoniae* (El-Hawary *et al.*, 2013). Penelitian terhadap penghambatan bakteri yang resisten terhadap antibiotik, juga menjadi fokus perhatian Vasconcelos *et al.* (2017) dalam melihat aktivitas antibakteri minyak esensial dan karvakrol dari *C. amboinicus* (Lour.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *S. aureus* resisten oxacillin dan vancomycin (OVRSA). Mereka menemukan nilai terendah dari *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) teramati ketika karvakrol digunakan untuk melawan OVRSA (0,25 mg/mL dan 0,5 mg/mL). Karvakrol tergolong ke dalam senyawa terpenoid, yang secara mayoritas diketahui berperan sebagai antibakteri bersama golongan steroid pada famili Lamiaceae, dengan mengganggu integrasi membran lipid bakteri (Maulana *et al.*, 2020).

Pembentukan biofilm *S. aureus* juga dihambat pada konsentrasi 0,5 mg/mL. Minyak esensial yang diisolasi dari daun *C. amboinicus* (Lour.) juga menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholera* dengan zona hambat 17 mm (Sujamol *et al.*, 2020). Aktivitas antimikroba terhadap bakteri Gram-negatif diperoleh dari campuran senyawa multi-poten dalam minyak esensial *C. amboinicus* (Lour.), sedangkan α -humulen bekerja kuat melawan bakteri Gram-positif (Bañuelos-Hernández *et al.*, 2020). Swamy *et al.* (2017) melaporkan ekstrak metanol dari daun *C. amboinicus* (Lour.) menunjukkan aktivitas antimikroba yang lebih besar terhadap semua patogen yang diuji (*Bacillus subtilis*, *Methicillin-resistant*

Staphylococcus aureus (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli* dibandingkan ekstrak aseton dan heksana. Aktivitas tertinggi diamati pada *B. subtilis* ($10,2 \pm 0,5$ mm), diikuti *S. aureus* (MRSA) ($9,2 \pm 0,3$ mm), *P. aeruginosa* ATCC 15442 ($7,2 \pm 0,2$ mm) dan *E. coli* E266 ($8,7 \pm 0,6$ mm) pada konsentrasi 300 $\mu\text{g}/\text{disc}$. Hal ini dikaitkan dengan tingginya kandungan total fenolik ($94,37 \pm 1,24$ mg GAE/g) dan total flavonoid ($26,90 \pm 1,35$ mgRE/g) dibandingkan 2 ekstrak lainnya.

6.2. Antifungi

C. amboinicus (Lour.) telah banyak diteliti terkait aktivitasnya, tidak hanya antibakteri namun juga terkait aktivitas antifunginya. El-Hawary (2013) menguji aktivitas antifungi dari minyak esensial yang berasal dari daun dan batang. Mereka mendapati bahwa keduanya aktif terhadap *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus niger*. Ekstrak metanol dari daun *C. amboinicus* (Lour.) memberikan zona hambat sebesar $9,0 \pm 0,3$ mm terhadap *Candida albicans* (Swamy *et al.*, 2017). Aktivitas terhadap *Aspergillus clavatus*, *A. niger*, *Cladosporium cladosporioides*, *Chaetomium globosum*, *Myrothecium verrucaria*, *Penicillium citrinum*, dan *Trichoderma viride* juga turut diteliti (Hsu & Ho, 2019). Mereka menemukan bahwa fraksi 2 dari minyak esensial *C. amboinicus* (Lour.) memiliki aktivitas antifungi yang sangat signifikan, dan kemudian diketahui bahwa senyawa utama yang terkandung di dalamnya adalah karvakrol.

6.3. Antikanker

Coleus amboinicus (Lour.) kaya akan kandungan minyak esensial yang memiliki aktivitas antikanker dengan berbagai mekanisme kerja secara *in vitro*. Salah satu komponen minyak esensialnya yaitu karvakrol, mampu menghambat pertumbuhan sel A375 (*human melanoma cancer*) dengan menginduksi apoptosis melalui aktivasi langsung dari jalur mitokondria (Govindaraju & Arulselvi, 2018). Lebih lanjut, kandungan minyak esensialnya juga dilaporkan aktif terhadap sel kanker MCF-7 dan HT-29 dengan IC_{50} $53 \pm 0,01$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan $87 \pm 0,01$ $\mu\text{g}/\text{mL}$, perlindungan 75% terhadap kerusakan DNA sel fibroblast 3T3-L1, dan penurunan produksi MMP-9 (Thirugnanasampandan *et al.*, 2015). Monzote *et al.* (2020) juga melaporkan aktivitas dari minyak esensial *C. amboinicus* (Lour.) terhadap MCF-7, MDA-MB-231, dan 22Rv1 (IC_{50} = 29,1; 29,6; 41,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Aktivitas ini dikaitkan dengan senyawa karvakrol, yang ternyata memiliki nilai IC_{50} 22,1; 36,1; 23,6 $\mu\text{g}/\text{mL}$, terhadap ketiga *cell line* tersebut. Ekstrak metanol daun *C. amboinicus* (Lour.) juga menunjukkan aktivitas antiproliferasi yang kuat terhadap sel kanker WiDr dengan nilai IC_{50} $8,598 \pm 2,68$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Laila *et al.*, 2020a). Penghambatan terhadap proliferasi dan induksi apoptosis juga dilaporkan Hasibuan dan Sumaiyah (2019) terhadap sel T47D menggunakan ekstrak etanol nanopartikel daun *C. amboinicus* (Lour.).

Ekstrak daun dari *C. amboinicus* (Lour.) juga memiliki aktivitas antitumor secara *in vivo*. Pengujian dengan menggunakan ekstrak etanol pada konsentrasi 100, 150, 250 dan 350 mg/kg (i.p) dapat menghambat pertumbuhan tumor sarkoma-180 dan karsinoma *Ehrlich ascites* pada tikus (Gurgel *et al.*, 2009). Ekstrak metanol dan fraksi n-butanol *C. amboinicus* (Lour.) juga dilaporkan memiliki kemampuan inhibisi angiogenesis, terlihat dari penurunan jumlah pembuluh darah yang signifikan pada lapisan peritoneal tikus dengan *Ehrlich ascites carcinoma* (EAC) dibandingkan dengan kontrol (Rajesh & Gayathri, 2015).

6.4. Antiinflamasi

Senyawa bioaktif telah diisolasi dari lingkungan alam termasuk tumbuhan sebagai sumber utama penemuan obat. Obat baru dari tanaman obat dapat mengobati penyakit dengan lebih efisien karena dinilai lebih aman dan efisien (Michel *et al.*, 2020). Salah satu eksplorasi dari *C. amboinicus* (Lour.) menemukan adanya senyawa thymoquinon yang berfungsi sebagai agen anti-inflamasi, bekerja melalui penghambatan aktivitas TNF- α dan menjadikannya sebagai senyawa penuntun (*lead compound*) dalam sintesis senyawa analog yang dilakukan oleh Chen *et al.* (2014) untuk meningkatkan potensi pengobatan rheumatoid arthritis. Pengujian aktivitas antiinflamasi secara *in vivo* juga pernah dilaporkan oleh Gurgel *et al.* (2009) yang menyatakan adanya pengurangan edema yang signifikan dari ekstrak etanol *C. amboinicus* pada dosis 250 dan 350 mg/kgBB, menggunakan metode induksi karagenan pada kaki tikus. Lebih lanjut, aktivitas antiinflamasi dari minyak esensialnya secara *in vivo* dinilai cenderung moderat jika dibandingkan natrium diklofenak, yang diinduksi menggunakan karagenan, putih telur dan xylen (Manjamalai *et al.*, 2012). Pada penelitian lain yang menggunakan ekstrak air, teramati adanya penurunan, baik itu pembengkakan edema kaki tikus yang diinduksi karagenan maupun tingkat mediator proinflamasi, TNF- α dan COX-2 (Chiu *et al.*, 2012).

6.5. Antioksidan

Fraksi dari batang *C. amboinicus* (Lour.) memiliki aktivitas antioksidan dan dibuktikan melalui berbagai metode pengujian *in vitro* seperti metode DPPH, uji daya reduksi, pembersihan radikal anion superoksida, dan kapasitas antioksidan total (Bhatt *et al.*, 2013). Gurning (2020) melaporkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dari ekstrak metanol daun *C. amboinicus* dengan metode DPPH, yang menunjukkan nilai IC₅₀ 38,83 ppm. Aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol, etanol dan kloroform dari daun *C. amboinicus* (Lour.) juga dievaluasi oleh Rai *et al.* (2016) dengan uji DPPH dan H₂O₂. Mereka menemukan bahwa aktivitas antioksidan yang paling efektif ditunjukkan oleh ekstrak etanol *C. amboinicus* (Lour.) berkorelasi positif dengan kandungan total fenoliknya. Fraksi etil asetat dari *C. amboinicus* (Lour.) dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yang moderat (Rosidah & Hasibuan, 2014).

Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun dan batang *C. amboinicus* (Lour.) juga dilaporkan Bañuelos-Hernandez *et al.* (2020) dengan uji pembersihan radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil melalui bioprofiling menggunakan kromatografi planar. Efek antioksidannya dikaitkan dengan komponen karvakrol.

6.6. Antidiabetes

Tanaman *C. amboinicus* (Lour.) yang kaya akan kandungan minyak esensialnya juga memiliki aktivitas sebagai antidiabetes. Hal ini dikaitkan dengan adanya kandungan senyawa steroid seperti stigmasterol, β -sitosterol, and karvakrol pada *C. amboinicus* (Lour.) (Govindaraju & Arulselvi, 2018). Sebagaimana diketahui bahwa steroid tumbuhan dinilai memiliki kemampuan untuk menstimulasi sel β dalam pelepasan insulin dan meningkatkan kadarnya. Insulin merupakan hormon anabolik utama yang dapat merangsang penurunan kadar glukosa darah dengan menstimulasi re-uptake glukosa, asam amino, dan lipid. Ekstrak daun *C. amboinicus* (Lour.) terbukti memiliki aktivitas antihiperglikemik dengan memperbaiki sel β , meningkatkan kadar insulin serum darah, menurunkan kadar glukosa darah, dan meningkatkan simpanan glikogen hati (Andrestian *et al.*, 2019).

Minyak esensial dan karvakrol juga menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap α -amilase dan α -glukosidase (Dhakshinya *et al.*, 2019). Kedua enzim tersebut berperan dalam mengubah karbohidrat menjadi glukosa, sehingga penghambatan α -amilase dan α -glukosidase dapat menyebabkan penurunan hiperglikemia *postprandial*. Mereka melaporkan fraksi 1 dari ekstrak metanol daun *C. amboinicus* (Lour.) memberikan hambatan maksimal terhadap α -amilase hingga $75,68 \pm 0,97\%$ dan $67,35 \pm 1,10\%$ pada α -glukosidase pada konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$. Govindaraju dan Arulselvi (2018) juga melaporkan aktivitas penghambatan dengan nilai IC_{50} dari minyak esensial dan karvakrol berturut-turut terhadap α -amilase sebesar $34,64 \pm 1,09$ dan $152,3 \pm 1,21 \mu\text{g/mL}$ dan terhadap α -glukosidase sebesar $29,29 \pm 1,05$ dan $94,02 \pm 0,78 \mu\text{g/mL}$.

6.7. Antihiperlipidemia

Studi kohort menunjukkan bahwa asupan flavonoid dari makanan secara umum dan quercetin pada khususnya dikaitkan dengan penurunan risiko penyakit kardiovaskular (Wang *et al.*, 2014). Konsumsi antioksidan yang lebih tinggi secara signifikan dapat memperbaiki profil lipid seperti trigliserida, LDL, HDL, dan kolesterol total yang lebih baik (Amalia & Damanik, 2018). *C. amboinicus* (Lour.) kaya akan senyawa fenol dan juga flavonoid, seperti quercetin yang berfungsi sebagai antioksidan.

Pengujian aktivitas antihiperlipidemia secara *in vivo*, dilakukan dengan memberikan perlakuan oral harian, berupa ekstrak etanol daun *C. amboinicus* (Lour.) pada tikus yang

mengalami diabetes dengan induksi streptozotocin (STZ), selama 14 hari. Perlakuan ini dapat menurunkan kadar trigliserida serum dan kolesterol total secara signifikan, disertai dengan peningkatan HDL, dengan dosis 620 mg/kgBB yang cenderung memberikan hasil lebih baik daripada dosis 930 mg/kgBB (Suryowati *et al.*, 2015). Selain itu, pengujian secara klinis juga pernah dilakukan menggunakan ekstrak air daun *C. amboinicus* (Lour.), yang dilaporkan dapat menurunkan total kolesterol secara signifikan pada wanita dengan hiperkolesterolemia setelah 30 hari perlakuan dengan pemberian 1 kapsul ekstrak (500 mg) per hari (Suryowati & Gultom, 2019). Serbuk *C. amboinicus* (Lour.) yang diberikan 750 mg/hari terhadap pria dengan hiperkolesterolemia selama 28 hari juga menunjukkan hasil yang sama, dengan penurunan total kolesterol hingga 11,8mg/dL (Amalia & Damanik, 2018).

6.8. Antimalaria

Ekstrak etanol *C. amboinicus* (Lour.) dapat menjadi agen profilaksis infeksi *P. berghei* dengan persentase kemosupresi 90,74% untuk dosis 400 mg/kgBB (Ramli *et al.*, 2014). Sementara minyak esensial dari *C. amboinicus* (Lour.) berpotensi sebagai agen profilaksis potensial dengan persentase kemosupresi 58,26% dan agen kuratif dengan persentase kemosupresi 65,38% pada dosis 1mL/kgBB mencit (Norazsida *et al.*, 2017). Monzote *et al.* (2020) juga melaporkan aktivitas minyak esensial dari *C. amboinicus* beserta karvakrol terhadap *Plasmodium falciparum* dengan IC₅₀ 5,9 µg/mL dan 6,3 µg/mL.

6.9. Laktagoga

Daun *C. amboinicus* (Lour.) atau torbangun telah dimanfaatkan secara turun menurun oleh etnis Batak di wilayah Simalungun, Sumatera Utara bagi Ibu yang baru melahirkan. Informasi yang diperoleh menunjukkan bahwa daun *C. amboinicus* (Lour.) dapat memulihkan keadaan Ibu setelah melahirkan dan meningkatkan produksi ASI serta dapat bertindak sebagai agen pembersihan rahim (Damanik, 2009). Iwansyah *et al.* (2017) melaporkan fraksi etil asetat daun torbangun (30 mg/kg BB per oral) dapat meningkatkan produksi susu sebesar 17%, dan berpengaruh terhadap pertambahan bobot badan anak tikus usia 2-14 hari dibandingkan kontrol. Fraksi etil asetat daun torbangun (EA) juga dapat menurunkan regulasi ekspresi gen reseptor estradiol (ER α) pada hari ke 28, dan mengatur ekspresi gen reseptor prolaktin (PRLR) kelenjar *mammæ* untuk menginduksi produksi ASI (Iwansyah *et al.*, 2019).

Tabel 3. Mikroba endofit yang diisolasi dari *Coleus amboinicus* (Lour.)

Daerah Asal	Bagian Tanaman	Mikroba Endofit	Metabolit yang diproduksi	Referensi
Tamil Nadu, India	Daun dan Batang	<i>Xylaria Sp.</i> <i>Curvularia vermiciformis</i> <i>Xylaria Sp.</i> <i>Acremonium Sp.</i> <i>Penicillium citrinum</i> <i>Phoma sp.</i>	Amilase, Laccase, Protease Selulase, Protease, Lipase Amilase, Laccase, Protease (tidak diujikan) (tidak diujikan) (tidak diujikan)	(Amirita <i>et al.</i> , 2012)
Tamil Nadu, India	Daun	<i>Pestalotiopsis microspora</i> EF01	Taxol	(Rajendran <i>et al.</i> , 2013)
Tamil Nadu, India	Daun	<i>Rhodococcus globerulus</i>	Asam asetat indol; 1-amino cyclopropane-1-carboxylic acid; Asam sianida; Ammonia; Siderofor; Tanin; Flavonoid; Saponin; Alkaloid; glycoside jantung; terpenoid	(Murugappan <i>et al.</i> , 2017)
Isabela, Filipina	Daun	<i>Aspergillus tamarii</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus terreus</i>	saponin, tanin, flavonoid, terpenoid, steroid, kuinon dan fenol alkaloid, tanin, terpenoid, dan fenol alkaloid, saponin, tanin, terpenoid, steroid, kuinon dan fenol	(Campos <i>et al.</i> , 2019)
Yogyakarta, Indonesia	Daun	<i>Athelia rolfsii</i>	Metil hemiterpenoat Metil 2,3 diene-butanoat	(Astuti <i>et al.</i> , 2020)
Ghats Timur, India Selatan	Daun	<i>Aspergillus sojae</i>	3-metiloksiran-2-asam karboksilat; 3-furaldehid; 2,3-butanediol 2-furankarboksia; 2-furan karboksaldehid; furil hidroksimetil keton; <i>levoglucosenone</i> ; asam 3-nitro propanoat 1,3-dioxolane; 1,3-dioxolane 5-hydroxymet; 5-hidroksimetil furfural; asetamida; 5,6,7,8-tetra hidrofurazano[4,5-c] azepin-4-one; 5-hidroksi-2-(hidroksi metil)-4-piron; asam tetra decanoat; asam n-heksadecanoat; asam cis-10-heptadecenoat	(Elango <i>et al.</i> , 2020)
Yogyakarta, Indonesia	Batang	<i>Syncephalastrum racemosum</i>	Metil heksadekanoat, asam heksadecanoat, metil (9Z,12Z)-oktadeka-9,12-dienoate, metil (Z)-oktadek-9-enoate; metil (11E,13E)-icosa-11,13-dienoate; asam oktadek-9-enoat; 2-hidroksi -3-fenil asam propanoat; 2-etil-4-metil-4,6-di(propan-2-il)-1,3,2-dioxaborinine; Ethanon, 1-(2,6-dihidroksi-4-metoksi fenil); 1,4-diaza-2,5-dioxo-3-isobutil bicyclo [4.3.0] nonane; 2,6-ditert-butylbenzen-1,4-diol; 2-metil-5-(2,6,6-trimetil sikloheksan-1-yl) pentana-2,3-diol; Asam oktadekanoat	(Rahmawati <i>et al.</i> , 2021)
Yogyakarta, Indonesia	Daun	<i>Eutypa linearis</i>	Benzenametanol, 4-nitro-; pentadeka-non; (1R',6S',10R')-5,5-Dimetil-11,12-dioksatriksiklo [8.2.1.0] (1,6)]tridecan-10-ol; asam 9,12-oktadekadinoat; asam 3-furanacetat, 4-heksil-2,5-dihidro-2,5-diokso-	(Gemantari <i>et al.</i> , 2021)

7. Pemanfaatan Lainnya: Kuliner

Daun *C. amboinicus* (Lour.) digunakan di berbagai belahan dunia sebagai bahan tambahan ke dalam hidangan mereka. Beberapa penggunaan kuliner telah dilaporkan di Amerika Selatan, Filipina, Indonesia, Afrika, India, dan Asia Tenggara. Rasa dan aroma yang kuat dari daun ini membuatnya ideal untuk membumbui daging dan ikan tertentu, membantu menutupi baunya yang kuat (Lukhoba *et al.*, 2006; Arumugam *et al.*, 2016). Ini juga digunakan sebagai bumbu sup asam di Vietnam, sebagai penyedap utama dalam sup kacang hitam Kuba dan sebagai salad di Karibia (Wadikar & Patki, 2016). Selain itu, kandungan nutrisinya juga berlimpah, seperti halnya kandungan mineral dari daun *C. amboinicus* (Lour.) diantaranya yaitu kalium (429,5 mg/100g), kalsium (223,3 mg/100g), magnesium (53,15 mg/100g), besi (30,8 mg/kg) dan seng (6,47 mg/kg) (Iwansyah *et al.*, 2017).

8. Sintesis Biogenik

Sintesis nanopartikel menggunakan tumbuhan (sintesis biogenik) untuk mendapatkan sifat bahan berdasarkan ukurannya merupakan alternatif dari metode fisika dan kimia konvensional (Zheng *et al.*, 2019). Sintesis nanopartikel senyawa kimia dinilai berbahaya bagi manusia dan lingkungan karena polusi yang berasal dari penggunaan bahan kimia berbahaya (Velsankar *et al.*, 2020). Beberapa penelitian mempublikasikan bahwa penggunaan ekstrak tumbuhan dalam sintesis nanopartikel lebih disukai karena biaya yang rendah dan produksi nanopartikel yang baik (Raveendran *et al.*, 2003; Iravani, 2011). Senyawa fitokimia dan bioaktif dalam ekstrak tumbuhan berfungsi baik sebagai agen pereduksi alami maupun sebagai agen *capping* yang menghilangkan beberapa langkah dan pemanfaatan bahan kimia beracun (Ramesh *et al.*, 2020a). Sejauh ini, ekstrak daun *C. amboinicus* sudah digunakan dalam proses sintesis biogenik dari beberapa produk nanopartikel dari oksida logam seperti nanopartikel ZnO (Zheng *et al.*, 2019), nanopartikel NiO (Ramesh *et al.*, 2020a), nanopartikel α -Fe₂O₃ (Ramesh *et al.*, 2020b) dan nanopartikel CuO (Velsankar *et al.*, 2020). Nanopartikel oksida logam banyak digunakan dalam kehidupan sehari-hari untuk berbagai aplikasi, seperti industri makanan, industri kosmetik dan industri pertanian hingga perangkat seperti sensor, sel surya, dan baterai (Agarwal *et al.*, 2019).

9. Mikroba Endofit yang Diisolasi dari *Coleus amboinicus* (Lour.)

Penemuan organisme endofit, yang dapat tumbuh dalam jaringan tanaman sehat (Sharma *et al.*, 2018) dapat diisolasi dan tumbuh di laboratorium bisa menjadi alternatif sumber metabolit yang diuji bioaktivitasnya, termasuk dibudidayakan dalam skala besar untuk kebutuhan komersial (Nisa *et al.*, 2015). Penelitian dan pemanfaatan bahan tumbuhan obat sebagai sumber senyawa bioaktif, dapat beresiko kerusakan hingga kepunahan spesies,

termasuk biaya yang lebih mahal akibat proses yang panjang dan berkelanjutan (Alurappa *et al.*, 2018). Eksplorasi endofit menarik lebih banyak penelitian untuk mencari senyawa bioaktif baru dengan dampak lingkungan yang relatif kecil. Produktivitasnya sebagai mikroorganisme sumber metabolit terbarukan (Gómez *et al.*, 2018), dapat dilakukan dengan proses yang lebih mudah dan ekonomis (Kuncoro, 2016), daripada mengeksploitasi tanaman yang dapat mempengaruhi keanekaragaman hayati lingkungan (Nisa *et al.*, 2015). Endofit jamur memiliki kemampuan untuk mensintesis metabolit sekunder yang mirip senyawa bioaktif inangnya (Palem *et al.*, 2015), karena adanya pertukaran genetik diantara keduanya (Seetharaman & Gnanasekar, 2017). Mikroorganisme endofit juga diketahui berkontribusi untuk jalur nutrisi dan pertahanan tanaman inang. *Rhodococcus globerulus*, bakteri endofit yang diisolasi dari *C. amboinicus* (Lour.) dilaporkan memiliki aktivitas yang bisa memacu pertumbuhan tanaman seperti adanya produksi asam asetat indol, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (ACC deaminase), Hydrogen Cyanide (HCN), produksi ammonia dan pelarutan fosfat, serta produksi Siderofor yang menggambarkan penghambatan patogen (Murugappan *et al.*, 2017).

Fungi endofit yang berhasil diisolasi dari daun *C. amboinicus* (Lour.) diantaranya yaitu *Acremonium Sp.*, *Curvularia vermiformis*, *Penicillium citrinum*, *Phoma sp.* dan *Xylaria Sp.* (Amirita *et al.*, 2012). Astuti *et al.* (2014) juga mengisolasi tiga fungi endofit dari jinten, dimana 2 diantaranya berasal dari daun jinten (CAL-1 dan CAL-2) dan lainnya dari batang jinten (CAS-1). CAL-2 dan CAS-1 menunjukkan potensi sebagai sumber agen antimikroba. Keduanya aktif sebagai antimikroba terhadap terhadap *B. subtilis* namun hanya CAS-1 yang aktif terhadap *P. aeruginosa*, *S. aureus* dan *S. thypi*. Skrinning awal menunjukkan senyawa bioaktif dalam ekstrak CAL-2 adalah senyawa terpenoid, fenolat dan fenil propanoid, sementara pada ekstrak CAS-1 terdapat terpenoid, propilpropanoid, alkaloid, atau senyawa nitrogen heterosiklik yang diduga sebagai agen antimikroba (Astuti *et al.*, 2014). Sementara itu, tiga spesies dari genus *Aspergillus*, yaitu *A. tamarii*, *A. niger* dan *A. terreus*, diisolasi dan dianalisis komponen mikokimia dari ekstrak etanolnya seperti alkaloid, saponin, tannin, glikosida, flavonoid, terpenoid, steroid, quinon dan fenol (Campos *et al.*, 2019). Ketiganya dilaporkan memiliki aktivitas penghambatan terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. Salah satu fungi endofit yang diisolasi dari daun *C. Amboinicus* (Lour.) diidentifikasi sebagai *Athelia rolfsii* (Astuti *et al.*, 2020). Senyawa bioaktif yang diisolasi dari ekstrak etil asetat hasil fermentasi *A. rolfsii* menunjukkan aktivitas antimikroba dengan IC₅₀ sebesar 0,86; 1,35; 1,33; 2,69; 1,9; 0,24 µg/mL dan nilai MBC 40; 40; 40; 40; 20; 20 µg/mL terhadap *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *S. typhi*, dan *S. mutans*. Elusidasi struktur dari isolat tersebut menunjukkan bahwa terdapat senyawa

metil hemiterpenoat sebagai senyawa mayor dan metil 2,3 diene-butanoat sebagai senyawa minor.

Elango *et al.* (2020) juga mengisolasi 23 fungi endofit dari berbagai bagian tanaman *C. amboinicus* (Lour.). *Aspergillus sojae*, yang merupakan salah satu isolat fungi, menunjukkan aktivitas terhadap *Spodoptera litura* yang resisten terhadap insektisida. Selain itu, mereka juga melaporkan keterlibatannya dalam produksi enzim selulase serta aktivitas antibakteri dari ekstrak etil asetatnya terhadap *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus* dan *P. fluorescence*. Endofit *Syncephalastrum racemosum* yang berhasil diisolasi Rahmawati *et al.* (2021), dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan dan antikanker terhadap T47D. Pada ekstrak *S. racemosum* yang dikultur pada kondisi gelap, terdapat senyawa metil hexadecanoat dan metil (Z)-octadec-9-enoat yang juga ditemukan pada ekstrak etil asetat batang *C. amboinicus* (Lour.). Sementara Gemantari *et al.* (2021) mengidentifikasi fungi endofit *Eutypa linearis* dari daun *C. amboinicus* (Lour.) dan melaporkan adanya aktivitas antikanker terhadap sel Hela dan antioksidan. Adanya kesamaan aktivitas dengan tanaman inangnya, menunjukkan adanya kemungkinan kesamaan komponen senyawa antara keduanya. Hal ini dimungkinkan berdasarkan pada adanya interaksi antara inang dan endofit, seperti pada fungi endofit *Alaromyces radicus* yang diisolasi dari *Catharanthus roseus*, yang dapat memproduksi senyawa vinkristin dan vinblastin, sama seperti inangnya (Palem *et al.*, 2015).

Tanaman *C. amboinicus* (Lour.) merupakan sumber metabolit sekunder yang sangat beragam. Hal ini mendukung potensi dari banyak mikroba endofit yang tumbuh dalam jaringan tanaman ini, untuk menjadi sumber bagi banyak metabolit bioaktif yang bermanfaat. Berdasarkan hasil studi literatur yang telah dilakukan, menunjukkan masih minimnya endofit yang telah berhasil diisolasi dari tanaman *C. amboinicus* (Lour.). Padahal, jika melihat dari aktivitas yang ditunjukkan dalam laporan penelitian sebelumnya, endofit dari *C. amboinicus* (Lour.) menunjukkan adanya aktivitas antibakteri, antikanker, antioksidan, maupun antidiabetes seperti halnya tanaman inangnya. Berdasarkan pada Tabel 3, sebanyak 7 segmen daun dan 2 segmen batang, dari 7 tumbuhan *C. amboinicus* (Lour.) yang berbeda, telah diskriminasi untuk mikroba endofit mereka. Sementara hanya 9 spesies yang telah berhasil diidentifikasi dari mikroba endofit tersebut. Namun, dari sekian banyak mikroba endofit hanya ada 1 bakteri endofit teridentifikasi, sedangkan mikroba endofit teridentifikasi lainnya berasal dari fungi. Alurappa *et al.* (2018) menyatakan bahwa mikroorganisme endofit mencakup bakteri dan fungi, dan diketahui bahwa fungi merupakan mikroorganisme yang paling sering diisolasi. Hal ini didasarkan pada beberapa senyawa penting seperti steroid, xanthone, fenol, isokumarin,

turunan perilena, kuinon, furandion, terpenoid, depsipeptida, dan sitokalasin yang telah berhasil diisolasi dari fungi endofit (Nisa *et al.*, 2015).

10. Kesimpulan

C. amboinicus (Lour.) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang penting, mempertimbangkan banyaknya kandungan komponen bioaktif dan nutrisi di dalamnya. Tanaman ini telah menunjukkan aktivitas farmakologis antara lain aktivitas antimikroba, antioksidan, antikanker, antiinflamasi, antidiabetes, antihiperlipidemia, antimalaria hingga laktagoga. Aktivitas farmakologis ini berkaitan dengan kandungan fitokimianya yang sangat bervariasi, baik dari senyawa volatil maupun non-volatil, dari berbagai golongan senyawa fitokimia. Selain itu, potensinya dalam bidang kuliner juga telah diketahui sejak lama. Dalam bidang kimia, pemanfaatannya dalam sintesis biogenik juga menjadi suatu alternatif yang lebih baik dalam mengurangi polusi dari bahan kimia berbahaya. Sehingga, bisa dinyatakan bahwa *C. amboinicus* (Lour.) memiliki prospek masa depan yang besar dalam memenuhi permintaan global terkait potensinya di berbagai bidang tersebut. Ekplorasi yang berkelanjutan tetap perlu dilakukan untuk membuktikan lebih jauh terkait bioaktivitas, dan tentu saja toksisitas yang lebih spesifik dan mendetail, terlebih jika bisa dimanfaatkan dalam studi fitofarmaka pada penyakit *non communicable disease* seperti antikanker, antidiabetes maupun antihiperlipidemia. Eksplorasi ini juga harus tetap mempertimbangkan efisiensi produksi jika menggunakan bahan tanaman secara langsung. Oleh karena itu, diperlukan alternatif metode seperti penelitian tentang mikroba endofit dari *Coleus amboinicus* (Lour.) yang sayangnya masih sedikit. Mengingat potensinya sebagai sumber metabolit yang bermanfaat untuk klinik dan bidang lain, studi terkait mikroba endofit masih perlu dieksplorasi lebih jauh dalam penelitian masa depan. Analisis senyawa bioaktif yang terdapat dalam mikroba endofit berasal dari *C. amboinicus*, baik yang dilakukan secara ekstraseluler maupun intraseluler, bahkan sampai analisis ekspresi gen tertentu yang berperan dalam jalur biosintesis metabolit sekunder perlu dilakukan.

Deklarasi Konflik Kepentingan

Sebagian informasi yang terdapat dalam review artikel ini merupakan bagian dari tesis Rahmawati. Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

Daftar Pustaka

- Agarwal, H., Nakara, A., and Shanmugam, V.K. (2019). Anti-inflammatory mechanism of various metal and metal oxide nanoparticles synthesized using plant extracts: A review. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 109(November 2018): pp.2561–2572. 10.1016/j.biopha.2018.11.116.
- Aguiar, J.J.S., Sousa, C.P.B., Araruna, M.K.A., Silva, M.K.N., Portelo, A.C., Lopes, J.C., Carvalho, V.R.A., Figueredo, F.G., Bitu, V.C.N., Coutinho, H.D.M., Miranda, T.A.S., and Matias, E.F.F. (2015). Antibacterial and modifying-antibiotic activities of the essential oils of *Ocimum gratissimum* L. and *Plectranthus amboinicus* L. *European*

- Journal of Integrative Medicine*, 7(2): pp.151–156. 10.1016/j.eujim.2014.10.005.
- Alurappa, R.,Chowdappa, S.,Radhakrishnan, N.,Sinniah, U.R.,Mohanty, S.K.,and Swamy, M.K. (2018). Endophytic fungi and bioactive metabolites production: An update, 455–482, in: *Microbial Biotechnology*. 10.1007/978-981-10-7140-9_21.
- Amalia, N.R. and Damanik, M.R.M. (2018). Torbangun leaves (*Coleus amboinicus* Lour) powder capsules supplementation improve lipid profile and blood pressure in men with hypercholesterol. *Jurnal Gizi dan Pangan*, 13(2): pp.71–78. 10.25182/jgp.2018.13.2.71-78.
- Amirita, A.,Sindhu, P.,Swetha, J.,Vasanthi, N.S.,and Kannan, K.P. (2012). Enumeration of endophytic fungi from medicinal plants and screening of extracellular enzymes. *World Journal of Science and Technology*, 2(2): pp.13–19.
- Andrestian, M.D.,Damanik, R.,Anwar, F.,and Yuliana, N.D. (2019). Anti-hyperglycemic effect of Torbangun (*Coleus amboinicus* Lour) leaves extract through liver and muscle glycogen deposits in Streptozotocin-induced hyperglycemic Sprague-Dawley rats model. *Medical Laboratory Technology Journal*, 5(2): pp.70–80. 10.31964/mltj.v%vi%i.227.
- Arumugam, G.,Swamy, M.K.,and Sinniah, U.R. (2016). *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng: Botanical, Phytochemical, Pharmacological and Nutritional Significance. *Molecules*, 21(4): pp.396. 10.3390/molecules21040369.
- Asiimwe, S.,Borg-Karlsson, A.-K.,Azeem, M.,Maud Mugisha, K.,Namutebi, A.,and James Gakunga, N. (2014). Chemical composition and toxicological evaluation of the aqueous leaf extracts of *Plectranthus amboinicus* Lour. Spreng. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 3(2): pp.19–27.
- Astuti, P.,Rollando, R.,Wahyuono, S.,and Nurrochmad, A. (2020). Antimicrobial activities of isoprene compounds produced by an endophytic fungus isolated from the leaves of *Coleus amboinicus* Lour. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 8(4): pp.280–289.
- Astuti, P.,Sudarsono, S.,Nisak, K.,and Nugroho, G.W. (2014). Endophytic fungi isolated from *Coleus amboinicus* Lour exhibited antimicrobial activity. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 4: pp.599–605. 10.5681/apb.2014.088.
- Bañuelos-Hernández, A.E.,Azadnia, E.,Ramírez Moreno, E.,and Morlock, G.E. (2020). Bioprofiling of Mexican *Plectranthus amboinicus* (Lour.) essential oil via planar chromatography–effect-directed analysis combined with direct analysis in real time high-resolution mass spectrometry. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 43(9–10): pp.344–350. 10.1080/10826076.2020.1737542.
- Bezerra, R. de C. de F.,Silva, F.F.D.M.,Bertini, L.M.,and Alves, L.A. (2017). Seasonal effect in essential oil composition and antioxidant activity of *Plectranthus amboinicus* leaves. *Bioscience Journal*, 33(6): pp.1608–1616. 10.14393/BJ-v33n6a2017-37154.
- Bhatt, P.,Joseph, G.S.,Negi, P.S.,and Varadaraj, M.C. (2013). Chemical composition and nutraceutical potential of Indian borage (*Plectranthus amboinicus*) stem extract. *Journal of Chemistry*. 10.1155/2013/320329.
- Buanasari, B.,Eden, W.T.,and Sholichah, A.I. (2017). Extraction of Phenolic Compounds From Petai Leaves (*Parkia Speciosa* Hassk.) Using Microwave and Ultrasound Assisted Methods. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, 6(1): pp.25–31. 10.15294/jbat.v6i1.7793.
- Campos, R.P.C.,Jacob, J.K.S.,Ramos, H.C.,and Temanel, F.B. (2019). Mycopharmacological properties of endophytic fungi isolated from Cuban Oregano (*Plectranthus amboinicus* Lour.) leaves. *Asian Journal of Biological and Life Sciences*, 8(3): pp.103–110. 10.5530/ajbls.2019.8.17.
- Chemat, F.,Rombaut, N.,Sicaire, A.G.,Meullemiestre, A.,Fabiano-Tixier, A.S.,and Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34: pp.540–560. 10.1016/j.ultsonch.2016.06.035.

- Chen, Y.S., Yu, H.M., Shie, J.J., Cheng, T.J.R., Wu, C.Y., Fang, J.M., and Wong, C.H. (2014). Chemical constituents of *Plectranthus amboinicus* and the synthetic analogs possessing anti-inflammatory activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 22(5): pp.1766–1772. 10.1016/j.bmc.2014.01.009.
- Chiu, Y.J., Huang, T.H., Chiu, C.S., Lu, T.C., Chen, Y.W., Peng, W.H., and Chen, C.Y. (2012). Analgesic and antiinflammatory activities of the aqueous extract from *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. both in vitro and in vivo. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, (508137): pp.1–11. 10.1155/2012/508137.
- Damanik, R. (2009). Torbangun (*Coleus amboinicus* Lour): A bataknese traditional cuisine perceived as lactagogue by bataknese lactating women in Simalungun, North Sumatera, Indonesia. *Journal of Human Lactation*, 25(1): pp.64–72. 10.1177/0890334408326086.
- Dhakshinya, M., Priya, V.V., Gayathri, R., and Sundaram, R. (2019). In vitro α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity of isolated fraction one from *Plectranthus amboinicus*. *Drug Invention Today* |, 12(4): pp.788–790.
- El-Hawary, S.S., El-Sofany, R.H., Abdel-Monem, A.R., Ashour, R.S., and Sleem, A.A. (2012). Polyphenolics content and biological activity of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) spreng growing in Egypt (Lamiaceae). *Pharmacognosy Journal*, 4(32): pp.45–54. 10.5530/pj.2012.32.9.
- El-Hawary, S.S., El-Sofany, R.H., Abdel-Monem, A.R., Ashour, R.S., and Sleem, A.A. (2013). Seasonal variation in the composition of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng essential oil and its biological activities. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 1(2): pp.11–18.
- Elango, D., Manikandan, V., Jayanthi, P., Velmurugan, P., Balamuralikrishnan, B., Veera, A., and Subramaniam, M. (2020). Current plant biology selection and characterization of extracellular enzyme production by an endophytic fungi *Aspergillus sojae* and its bio-efficacy analysis against cotton leaf worm, *Spodoptera litura*. *Current Plant Biology*, 23: pp.100153. 10.1016/j.cpb.2020.100153.
- Gemantari, B.M., Romadhonsyah, F., Nurrochmad, A., Wahyuono, S., and Astuti, P. (2021). Bioactivity Screening of Endophytic Fungus *Eutypa linearis* isolated from *Coleus amboinicus* (Lour.). *Indonesian Journal of Pharmacy*, 32(1): pp.86–95. 10.22146/ijp.1077.
- Gómez, O.C., Honorata, J., and Luiz, H. (2018). Endophytic fungi isolated from medicinal plants: future prospects of bioactive natural products from *Tabebuia* / *Handroanthus* endophytes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102: pp.9105–9119. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9344-3>.
- Gonçalves, T.B., Braga, M.A., De Oliveira, F.F.M., Santiago, G.M.P., Carvalho, C.B.M., Cabral, P.B.E., Santiago, T.D.M., Sousa, J.S., Barros, E.B., Nascimento, R.F. Do, and Nagao-Dias, A.T. (2012). Effect of subinhibitory and inhibitory concentrations of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng essential oil on *Klebsiella pneumoniae*. *Phytomedicine*, 19(11): pp.962–968. 10.1016/j.phymed.2012.05.013.
- Govindaraju, S. and Arulselvi, P.I. (2018). Characterization of *Coleus aromaticus* essential oil and its major constituent carvacrol for in vitro antidiabetic and antiproliferative activities. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 24(1): pp.37–51. 10.1080/10496475.2017.1369483.
- Gurgel, A.P.A.D., da Silva, J.G., Grangeiro, A.R.S., Oliveira, D.C., Lima, C.M.P., da Silva, A.C.P., Oliveira, R.A.G., and Souza, I.A. (2009). In vivo study of the anti-inflammatory and antitumor activities of leaves from *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng (Lamiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 125(2): pp.361–363. 10.1016/j.jep.2009.07.006.
- Gurib-Fakim, A., Sewraj, M.D., Narod, F., and Menut, C. (1995). Aromatic plants of mauritius: Volatile constituents of the essential oils of *Coleus aromaticus* Benth., *Triphasia trifolia*

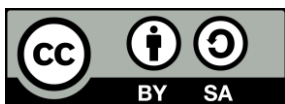
- (Burm.f.) and *Eucalyptus kirtoniana* F. Muell. *Journal of Essential Oil Research*, 7(2): pp.215–218. 10.1080/10412905.1995.9698504.
- Gurning, K. (2020). Determination antioxidant activities methanol extracts of bangun-bangun (*Coleus amboinicus* L.) Leaves with DPPH method. *Jurnal Pendidikan Kimia*, 12(2): pp.62–69. 10.24114/jpkim.v12i2.19397.
- Hasibuan, P.A.Z. and Sumaiyah, S. (2019). The anti-proliferative and pro-apoptotic properties of Ethanol *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. Leaves ethanolic extract nanoparticles on T47D cell lines. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 20(3): pp.897–901. 10.31557/APJCP.2019.20.3.897.
- Hassani, M.S., Zainati, I., Zrira, S., Mahdi, S., and Oukessou, M. (2012). Chemical composition and antimicrobial activity of *plectranthus amboinicus* (lour) spring. essential oil from archipelago of comoros. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 15(4): pp.637–644. 10.1080/0972060X.2012.10644098.
- Hsu, K.P. and Ho, C.L. (2019). Antimildew effects of *plectranthus amboinicus* leaf essential oil on paper. *Natural Product Communications*, 14(7): pp.1–6. 10.1177/1934578X19862903.
- Hullatti, K.K. and Bhattacharjee, P. (2011). Pharmacognostical evaluation of different parts of *Coleus amboinicus* Lour., Lamiaceae. *Pharmacognosy Journal*, 3(24): pp.39–44. 10.5530/pj.2011.24.8.
- Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13(10): pp.2638–2650. 10.1039/c1gc15386b.
- Iwansyah, A.C., Damanik, M.R.M., Kustiyah, L., and Hanafi, M. (2017). Potensi fraksi etil asetat daun Torbangun (*Coleus amboinicus* L.) dalam meningkatkan produksi susu, bobot badan tikus, dan anak tikus. *Jurnal Gizi dan Pangan*, 12(1): pp.61–68. 10.25182/jgp.2017.12.1.61-68.
- Iwansyah, A.C., Damanik, R.M., Kustiyah, L., and Hanafi, M. (2019). The ethyl acetate fraction of Torbangun (*Coleus amboinicus* L.) leaves increasing milk production with up-regulated genes expression of Prolactin receptor. *Journal of Tropical Life Science*, 9(2): pp.147–154. 10.11594/jtls.09.02.03.
- Januarti, I.B., Wijayanti, R., Wahyuningsih, S., and Nisa, Z. (2019). Potensi Ekstrak Terpurifikasi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Sebagai Antioksidan Dan Antibakteri. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 4(2): pp.60. 10.20961/jpscr.v4i2.27206.
- Joshi, R.K., Badakar, V., and Kholkute, S. (2011). Carvacrol rich essential oils of *Coleus aromaticus* (Benth.) from Western Ghats region of North West Karnataka. *Advances in Environmental Biology*, 5(6): pp.1307–1310.
- Kellogg, J.J., Wallace, E.D., Graf, T.N., Oberlies, N.H., and Cech, N.B. (2017). Conventional and accelerated-solvent extractions of green tea (*camellia sinensis*) for metabolomics-based chemometrics. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 145: pp.604–610. 10.1016/j.jpba.2017.07.027.
- Khalid, A. and El-Gohary, A. (2014). Effect of seasonal variations on essential oil production and composition of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) grow in Egypt. *International Food Research Journal*, 21(5): pp.1859–1862.
- Khan, M.C.P.I. (2013). *Current Trends in Coleus Aromaticus: An Important Medicinal Plant*. Bloomington: Booktango.
- Kuncoro, H. (2016). Mini Review Jamur endofit, biodiversitas, potensi dan prospek. *Tropical Pharmacy and Chemistry*, 1(3): pp.250–265.
- Laila, F., Fardiaz, D., Yuliana, N.D., Damanik, M.R.M., and Dewi, F.N.A. (2020a). Methanol extract of *Coleus amboinicus* (Lour) exhibited antiproliferative activity and induced programmed cell death in colon cancer cell WiDr. *International Journal of Food Science*, 9068326. 10.1155/2020/9068326.

- Laila, F., Fardiaz, D., Yuliana, N.D., Damanik, M.R.M., and Dewi, F.N.A. (2020b). Phytochemical contents of Torbangun (*Coleus amboinicus* Lour) from fractionation of Pressurized Liquid Extraction. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 25(2): pp.224–230. 10.18343/jipi.25.2.224.
- Lukhoba, C.W., Simmonds, M.S.J., and Paton, A.J. (2006). *Plectranthus*: A review of ethnobotanical uses. *Journal of Ethnopharmacology*, 103(1): pp.1–24. 10.1016/j.jep.2005.09.011.
- Ma, D., Hu, Y., Yang, C., Liu, B., Fang, L., Wan, Q., Liang, W., Mei, G., Wang, L., Wang, H., Ding, L., Dong, C., Pan, M., Chen, J., Wang, S., Chen, S., Cai, C., Zhu, X., Guan, X., Zhou, B., Zhu, S., Wang, J., Guo, W., Chen, X., and Zhang, T. (2016). Genetic basis for glandular trichome formation in cotton. *Nature Communications*, 7(10456): pp.1–9. 10.1038/ncomms10456.
- Manjamalai, A., Alexander, T., and Berlin Grace, V.M. (2012). Bioactive evaluation of the essential oil of *plectranthus amboinicus* by GC-MS analysis and its role as a drug for microbial infections and inflammation. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(SUPPL.3): pp.205–211.
- Mathalaimuthu, B., Shanmugam, D., Kalimuthu, K., Kadarkarai, M., Jayapal, G., and Giovanni, B. (2017). *Coleus aromaticus* leaf extract fractions: A source of novel ovicides, larvicides and repellents against *Anopheles*, *Aedes* and *Culex* mosquito vectors? *Process Safety and Environmental Protection*, 106: pp.23–33. 10.1016/j.psep.2016.12.003.
- Maulana, I.A., Triatmoko, B., and Nugraha, A.S. (2020). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Tanaman Senggugu (*Rotheca serrata* (L.) Steane & Mabb.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 5(1): pp.01. 10.20961/jpscr.v5i1.32200.
- Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sánchez-Contreras, A., and Pacheco, N. (2017). Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, 7(3). 10.3390/agronomy7030047.
- Michel, J., Abd Rani, N.Z., and Husain, K. (2020). A review on the potential use of medicinal plants from Asteraceae and Lamiaceae plant family in cardiovascular diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 11(852): pp.1–26. 10.3389/fphar.2020.00852.
- Monzote, L., Setzer, W.N., Scherbakov, A.M., Scull, R., Gutiérrez, Y.I., Satyal, P., Cos, P., Shchekotikhin, A.E., and Gille, L. (2020). Pharmacological assessment of the carvacrol chemotype essential oil from *Plectranthus amboinicus* growing in Cuba. *Chemical Compositions and Biological Activities of Essential Oils-Natural Product Communications*, 15(10): pp.1–12. <https://doi.org/10.1177/1934578X20962233>.
- Muniroh, L., Martini, S., Nindya, T.S., and Solfaire, R. (2013). Efek anti radang dan toksisitas akut ekstrak daun Jintan (*Plectranthus amboinicus*) pada tikus yang diinduksi arthritis. *Makara Seri Kesehatan*, 17(1): pp.33–40. 10.7454/msk.v17i1.xxxx.
- Murugappan, R.M., Benazir, S., Usha, C., and Lok, S. (2017). Growth Promoting and Probiotic Potential of the Endophytic Bacterium *Rhodococcus globerulus* colonizing the Medicinal Plant *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. *International Journal of Current Research and Review*, 9(14): pp.7–13. 10.7324/ijcrr.2017.9143.
- Nisa, H., Kamili, A.N., Nawchoo, I.A., Shafi, S., Shameem, N., and Bandh, S.A. (2015). Fungal endophytes as prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products: A review. *Microbial Pathogenesis*, 82: pp.50–59. 10.1016/j.micpath.2015.04.001.
- Norazsida, R., Pakeer, O., and Taher, M. (2017). The antimalarial properties of essential oils of the leaves of Malaysian *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng in mice infected with *Plasmodium berghei*. *International Medical Journal Malaysia*, 16(1): pp.67–73.
- Palem, P.P.C., Kuriakose, G.C., and Jayabaskaran, C. (2015). An endophytic fungus, *Talaromyces radicus*, isolated from *Catharanthus roseus*, produces Vincristine and Vinblastine, which induce apoptotic cell death. *PLoS ONE*, 10(12): pp.e0144476. 10.1371/journal.pone.0144476.

- Pane, Y.S.,Sufitni, S.,Lumongga, F.,Alrasyid, N.,Sari, D.P.,Wati, R.,and Basyuni, M. (2018). The effectiveness of coleus *amboinicus* leaf extracts as an analgetic activity on mice exposed to acetic acid. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(9): pp.301–304. 10.22159/ajpcr.2018.v11i9.26538.
- Prudent, D.,Perineau, F.,Bessiere, J.M.,Michel, G.M.,and Baccou, J.C. (1995). Analysis of the essential oil of wild oregano from martinique (*Coleus aromaticus* Benth.)—evaluation of its bacteriostatic and fungistatic properties. *Journal of Essential Oil Research*, 7(2): pp.165–173. 10.1080/10412905.1995.9698492.
- Pyne, M.E.,Narcross, L.,and Martin, V.J.J. (2019). Engineering plant secondary metabolism in microbial systems. *Plant Physiology*, 179(3): pp.844–861. 10.1104/pp.18.01291.
- Radji, M. (2005). Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2(3): pp.113–126.
- Rahmawati,Eltivitasari, A.,Romadonsyah, F.,Gemantari, B.M.,Nurrochmad, A.,Wahyuono, S.,and Astuti, P. (2021). Effect of Light Exposure on Secondary Metabolite Production and Bioactivities of. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 5(February): pp.312–318.
- Rai, V.,Pai, V.R.,and Kedilaya, P. (2016). A preliminary evaluation of anticancer and antioxidant potential of two traditional medicinal plants from lamiaceae-pogostemon heyneanus and plectranthus *amboinicus*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(8): pp.73–78. 10.7324/JAPS.2016.60811.
- Rajendran, L.,Rajagopal, K.,and Subbarayan, K. (2013). Efficiency of fungal taxol on human liver carcinoma cell lines. *American Journal of Research Communication*, 1(6): pp.112–121.
- Rajesh, V. and Gayathri, K. (2015). Angiogenesis modulation by Plectranthus *amboinicus* leaf extract and its fractions on chorioallantoic membrane and tumor induced angiogenesis. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 15(4): pp.257–276. 10.1007/s13596-015-0198-2.
- Ramesh, R.,Yamini, V.,Rajkumar, D.,John Sundaram, S.,Lakshmi, D.,and Khan, F.L.A. (2020). Biogenic synthesis of α -Fe₂O₃ nanoparticles using Plectranthus *amboinicus* leaf extract. *Materials Today: Proceedings*. 10.1016/j.matpr.2020.05.095.
- Ramesh, R.,Yamini, V.,Sundaram, S.J.,Khan, F.L.A.,and Kaviyarasu, K. (2020). Investigation of structural and optical properties of NiO nanoparticles mediated by Plectranthus *amboinicus* leaf extract. *Materials Today: Proceedings*. 10.1016/j.matpr.2020.03.581.
- Ramli, N.,Ahamed, P.O.,Elhady, H.M.,and Taher, M. (2014). Antimalarial activity of Malaysian Plectranthus *amboinicus* against Plasmodium berghei. *Pharmacognosy Research*, 6(4): pp.280–284. 10.4103/0974-8490.138248.
- Raveendran, P.,Fu, J.,and Wallen, S.L. (2003). Completely ‘Green’ Synthesis and Stabilization of Metal Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*, 125(46): pp.13940–13941. 10.1021/ja029267j.
- Rosidah and Hasibuan, P.A.Z. (2014). Cytotoxic effect of n-hexane, ethylacetate and ethanol extracts of Plectranthus *amboinicus*, (Lour.) Spreng.) on HeLa and Vero cells lines. *International Journal of PharmTech Research*, 6(6): pp.1806–1809.
- Seetharaman, P. and Gnanasekar, S. (2017). Isolation and characterization of anticancer flavone chrysin from Passiflora incarnata L . leaves. : pp.321–331. 10.1007/s13213-017-1263-5.
- Sharma, M.,Kansal, R.,and Singh, D. (2018). Endophytic microorganisms: Their role in plant growth and crop improvement, 391–413, in: *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Crop Improvement through Microbial Biotechnology*. Elsevier B.V. 10.1016/B978-0-444-63987-5.00020-7.
- Shubha, J.R. and Bhatt, P. (2015). Plectranthus *amboinicus* leaves stimulate growth of probiotic L. plantarum: Evidence for ethnobotanical use in diarrhea. *Journal of Ethnopharmacology*, 166: pp.220–227. 10.1016/j.jep.2015.02.055.

- Stierle A, Strobel G, S.D. (1993). *Taxol and Taxane Production by Taxomyces Andreanae*, *Endophytic Fungus of Pacific Yew*. <https://doi.org/10.1126/science.8097061>.
- Sujamol, M., Roy, J., and James, K.M. (2020). Phytochemical screening and antimicrobial activity of *Coleus aromaticus* leaf extract, in: *Materials Today: Proceedings*. Elsevier BV. 10.1016/j.matpr.2020.05.255.
- Sulaiman, C.T., Deepak, M., and Balachandran, I. (2018). Spectrophotometric and tandem mass spectroscopic analysis of Indian borage (*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng.) for its polyphenolics characterization. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(4): pp.471–473. 10.1016/j.bjbas.2018.04.004.
- Sulistiyowati, Yuliani, and Bashri, A. (2018). Identifikasi struktur sekretori yang berpotensi menghasilkan minyak atsiri pada genus *Coleus*. *LenteraBio*, 7(2): pp.168–175.
- Suryowati, T. and Gultom, M. (2019). Effect of torbangun (*Coleus amboinicus* Lour) on blood pressure in women with hypercholesterolemia, in: *Journal of Physics: Conference Series*. Institute of Physics Publishing. 10.1088/1742-6596/1146/1/012002.
- Suryowati, T., Rimbawan, Damanik, R., Bintang, M., and Handharyani, E. (2015). Antihyperlipidemic activity of Torbangun extract (*Coleus amboinicus* Lour) on diabetic rats induced by Streptozotocin. *IOSR Journal Of Pharmacy*, 5(5): pp.50–54.
- Swamy, M.K., Arumugam, G., Kaur, R., Ghasemzadeh, A., Yusoff, M.M., and Sinniah, U.R. (2017). GC-MS based metabolite profiling, antioxidant and antimicrobial properties of different solvent extracts of Malaysian *Plectranthus amboinicus* leaves. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 1517683: pp.1–12. 10.1155/2017/1517683.
- Tafzi, F., Andarwulan, N., Giriwonob, P.E., Nur, F., and Dewid, A. (2017). Uji efikasi ekstrak metanol saun Torbangun (*Plectranthus amboinicus*) pada sel epitel kelenjar susu manusia MCF-12A. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 15(1): pp.17–24.
- Tan, R.X. and Zou, W.X. (2001). Endophytes: A rich source of functional metabolites. *Natural Product Reports*, 18(4): pp.448–459. 10.1039/b100918o.
- Thirugnanasampandan, R., Ramya, G., Gogulramnath, M., Jayakumar, R., and Kanthimathi, M.S. (2015). Evaluation of cytotoxic, DNA protecting and LPS induced MMP-9 down regulation activities of *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng. essential oil. *Pharmacognosy Journal*, 7(1): pp.32–36. 10.5530/pj.2015.7.3.
- Vasconcelos, S.E.C.B., Melo, H.M., Cavalcante, T.T.A., Júnior, F.E.A.C., de Carvalho, M.G., Menezes, F.G.R., de Sousa, O.V., and Costa, R.A. (2017). *Plectranthus amboinicus* essential oil and carvacrol bioactive against planktonic and biofilm of oxacillin- and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1): pp.1–9. 10.1186/s12906-017-1968-9.
- Velasco, J., Rojas, L.B., Díaz, T., and Usubillaga, A. (2009). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *coleus amboinicus* Lour., against enteric pathogens. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 12(4): pp.453–461. 10.1080/0972060X.2009.10643744.
- Velsankar, K., Vinothini, V., Sudhahar, S., Kumar, M.K., and Mohandoss, S. (2020). Green Synthesis of CuO nanoparticles via *Plectranthus amboinicus* leaves extract with its characterization on structural, morphological, and biological properties. *Applied Nanoscience (Switzerland)*, 10(10): pp.3953–3971. 10.1007/s13204-020-01504-w.
- Verma, R.S., Padalia, R.C., and Chauhan, A. (2012). Essential oil composition of *coleus aromaticus* Benth. from Uttarakhand. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 15(2): pp.174–179. 10.1080/0972060X.2012.10644033.
- Wadikar, D.D. and Patki, P.E. (2016). *Coleus aromaticus*: a therapeutic herb with multiple potentials. *Journal of Food Science and Technology*, 53(7): pp.2895–2901. 10.1007/s13197-016-2292-y.
- Wang, X., Ouyang, Y.Y., Liu, J., and Zhao, G. (2014). Flavonoid intake and risk of CVD: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *British Journal of*

- Nutrition*, 111(1): pp.1–11. 10.1017/S000711451300278X.
- Yang, L.,Wen, K.S.,Ruan, X.,Zhao, Y.X.,Wei, F.,and Wang, Q. (2018). Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, 23(4): pp.1–26. 10.3390/molecules23040762.
- Yuliana, N.D.,Sugiharto, M.A.,Lioe, H.N.,Goto, M.,and Ishikawa, Y.T. (2018). NMR metabolomics revealed metabolites and bioactivity variation in Torbangun leaves *Plectranthus amboinicus* L. With different origins. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 23(2): pp.91–101. 10.22146/ijbiotech.38659.
- Zhang, Q.W.,Lin, L.G.,and Ye, W.C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products : a comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13(20): pp.1–26. 10.1186/s13020-018-0177-x.
- Zheng, Y.,Huang, Y.,Shi, H.,and Fu, L. (2019). Green biosynthesis of ZnO nanoparticles by plectranthus *amboinicus* leaf extract and their application for electrochemical determination of norfloxacin. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 49(9): pp.277–282. 10.1080/24701556.2019.1661441.



© 2021 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).

Isolasi Jamur Tanah dari Muara Sungai di Desa Kilensari Kecamatan Panarukan Serta Skrining Aktivitas Antibakteri Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Amrina Rosyada Fajriyanti, Bawon Triatmoko dan Ari Satia Nugraha*

Drug Utilisation and Discovery Research Groups, Fakultas Farmasi, Universitas Jember, Jl. Kalimantan 1/2, Jember, Indonesia 68121

*email korespondensi: arisatia@unej.ac.id

Received 30 August 2020, Accepted 24 June 2021, Published 15 July 2021

Abstrak: Kasus infeksi oleh bakteri menjadi sepuluh besar kasus yang mengakibatkan kematian di Indonesia dengan persentase 9,5 %. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat untuk mengatasi masalah infeksi dapat menyebabkan resistensi antibakteri. Untuk mengatasi hal tersebut, banyak dilakukan pengembangan terhadap agen-agen antibakteri. Banyak penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri dapat ditemukan pada mikroorganisme dalam tanah. Penelitian ini dilakukan penelusuran dan isolasi fungi tanah muara di Desa Kilensari Kecamatan Panarukan serta skrining aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yang bertujuan untuk memperoleh kandidat antibakteri yang potensial. Metode yang digunakan dalam penentuan aktivitas antibakteri pada penelitian ini yaitu metode mikrodilusi berdasarkan protokol *Clinical and Laboratory Standards Institute* tahun 2015. Hasil yang diperoleh dari tahap isolasi yaitu 6 isolat fungi tanah yang diberi kode IS-PN-A1, IS-PN-A2, IS-PN-T1, IS-PN-T2, IS-PN-B1 dan IS-PN-B2. Isolat yang didapatkan dilakukan skrining awal uji aktivitas antibakteri dengan metode ujikontak langsung dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Zona bening yang terbentuk menunjukkan aktivitas antibakteri dari isolat. Isolat fungi tanah muara kemudian dilakukan proses fermentasi untuk memproduksi metabolit sekunder. Hasil fermentasi dilakukan proses ekstraksi menggunakan etil asetat yang nantinya ekstrak akan digunakan dalam uji aktivitas antibakteri menggunakan metode mikrodilusi. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa fungi tanah muara sungai Desa Kilensari Kecamatan Panarukan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Persen penghambatan fungi tanah muara dengan nama isolat IS-PN-A1 menghasilkan persen penghambatan sebesar 74,8±2,4%; IS-PN-A2 33,2±7,0%; IS-PN-T1 70,2±4,8%; IS-PN-T2 53,1±3,6%; IS-PN-B1 29,7±4,0%; IS-PN-B2 45,8±2,1 %.

Kata kunci: Fungi Tanah; Antibakteri; *Pseudomonas aeruginosa*

Abstract. Isolation of soil fungi from estuary in kilensari village district of panarukan and screening of antibacterial activities on *Pseudomonas aeruginosa*. Infectious cases are becoming a major ten-fold death-causing case In Indonesia with a 9.5 % presentation. Using antibiotics in the wrong way for infectious diseases can cause antibacterial resistance. Many research developments have found a new antibacterial agent to solve these problems. In this research, the search and isolation of soil from the Kilensari village district of Panarukan and the screening activities of *Pseudomonas aeruginosa*. The method used in determining the antibacterial activity in this study is microdilution based on the Clinical and Laboratory Standards Institute 2015 protocol. The results of this research are six isolates named IS-PN-A1, IS-PN-A2, IS-PN-T1, IS-PN-T2, IS-PN-B1, and IS-PN-B2. Isolate then prepared for initial screening by direct contact between the bacteria and the isolate. Clear zone showing the antibacterial activity of the isolate. Isolate the soil fungi and then proceed with fermentation to produce the secondary metabolite. The fermentation results will be extracted using ethyl

acetate and then used in antibacterial activity tests using the microdilution method. The antibacterial test showed that soil fungi in the Kilensari village of Panarukan had antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. Percent inhibition of IS-PN-A1 isolate at 74.8 ± 2.4 percent; IS-PN-A2 33.2 ± 7.0 percent; IS-PN-T1 70.2 ± 4.8 percent; IS-PN-T2 53.1 ± 3.6 percent; IS-PN-B1 29.7 ± 4.0 percent; IS-PN-B2 45.8 ± 2.1 percent.

Keywords: Soil Fungi; Antibacterial; *Pseudomonas aeruginosa*

1. Pendahuluan

Antimicrobial Resistance (AMR) selama beberapa dekade ini menjadi masalah serius dalam dunia kesehatan dan menjadi isu global khususnya pada menurunnya efektifitas pengobatan infeksi yang disebabkan oleh mikroba seperti jamur, bakteri dan virus. Organisasi kesehatan dunia yaitu WHO mengestimasi sebanyak 700.000 orang akan meninggal setiap tahunnya akibat resistensi antibiotik (2014). Sedangkan pada tahun 2050 diperkirakan sekitar 10 juta orang terancam meninggal disebabkan oleh resistensi antimikroba (O'Neill, 2016). Kasus-kasus resistensi antimikroba khususnya pada resistensi antibakteri terjadi dikarenakan penggunaan antibiotik yang tidak sesuai pada kasus infeksi.

Kasus infeksi oleh bakteri menjadi sepuluh besar kasus yang mengakibatkan kematian dengan persentase 9,5% di Indonesia (WHO, 2014). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia dalam laporan data dan profil kesehatan Indonesia tahun 2018 melaporkan angka kejadian kasus infeksi yang tinggi mencapai angka total sebanyak 1.249.958 kasus (Kementerian Kesehatan RI, 2018). Laporan yang berjudul *Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance* menunjukkan bahwa Asia Tenggara memiliki angka tertinggi dalam kasus kejadian resistensi mikroba. (WHO, 2014). Pengembangan antibakteri baru untuk menunjang antibakteri yang menjadi tidak efektif, membawa urgensi untuk memenuhi kebutuhan pengobatan yang manjur terhadap penyakit infeksi.

Sumber agen antibakteri dapat diperoleh dari dalam tanah (Taylor *et al.*, 2009). Tanah menjadi tempat yang baik untuk mikroba penghasil agen antibakteri dikarenakan persaingan nutrisi dan wilayah yang kuat (Karwehl & Stadler, 2016). Skrining antibiotik dari mikroorganisme tanah telah dilakukan sejak 60 tahun yang lalu dan menunjukkan persentase yang tinggi terhadap metabolit sekunder yang dihasilkan fungi tanah. Terdapat sekitar 23.000 metabolit sekunder, 42% dihasilkan dari *Actinobacteria*, 42% dari fungi dan 16% dari bakteri lainnya (Srividya *et al.*, 2008).

Fungi yang menghasilkan aktivitas antibakteri yang menjanjikan sebagai sumber antibiotik baru dapat diisolasi dari tanah hutan Kubah National Park Malaysia (Wibowo *et al.*, 2017). Tanah muara juga menjadi sumber fungi yang dapat diisolasi seperti pada penelitian yang dilakukan terhadap sedimen muara sungai dimana telah menghasilkan beberapa isolat fungi yang berpotensi sebagai sumber antibiotik (Khandavilli *et al.*, 2016).

Muara sungai merupakan ekosistem yang masih dipengaruhi oleh ekosistem laut seperti pasang surut, gelombang dan aliran air tawar serta sedimen muara sungai.

Eksplorasi yang lebih luas terhadap kekayaan fungi tanah muara sungai bertujuan untuk penelusuran sehingga memperoleh kandidat antibakteri yang potensial. Sampel tanah yang digunakan untuk isolasi fungi tanah dalam penelitian ini yaitu tanah muara sungai di Desa Kilensari Kecamatan Panarukan Kabupaten Situbondo. Pemilihan kawasan didasarkan pada studi awal potensi fungi tanah di beberapa tempat seperti kawasan Sidoarjo, Situbondo, Madura dan Banyuwangi yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan daerah Situbondo mempunyai potensi fungi tanah yang memiliki aktivitas antibakteri (Pamungkas, 2021) sehingga dilakukan penyusuran yang lebih luas lagi di kawasan Situbondo. Penelitian ini menggunakan metode *Microdilution method* untuk pengujian aktivitas antibakteri karena merupakan metode yang dapat mengukur secara kuantitatif nilai penghambatan bakteri selain itu juga sensitif dan cepat.

2. Bahan dan Metode

Tanah muara sungai yang diperoleh dari Desa Kilensari Kecamatan Panarukan Kabupaten Situbondo Jawa timur, Air Laut dari pantai pasir putih Situbondo, *Laminar Air Flow* (THERMO CIENTIFIC 1300 SERIES A2), *autoclave* (B-ONE), *shaker incubator* (B-ONE), neraca analitik (OHAUS), *hot plate* (HEIDOLPH), *vortex* (GENE-2), mikropipet (Socorex dan Eppendorf), *centrifuge*, spektrofotometer UV-Vis (GENESYS), *microplate flat bottom 96 wells* (IWAKI), *microplate reader* (HumaReader HS), lemari asam, ultraviolet detektor, destilator. aqua demineralisata (HYDROBATT), air laut, larutan NaCl 0,9%, *Potato Dextrose Agar* (PDA) (HIMEDIA), *Potato Dextrose Broth* (PDB) (HIMEDIA), *Mueller Hinton Agar* (MHA) (Merck), *Mueller Hinton Broth* (MHB) (HIMEDIA), bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 , DMSO (Emsure), CaCl₂ (Sigma), MgCl₂ (Brataco), BaCl₂, H₂SO₄, etil asetat teknis, gentamisin sulfat, lempeng kromatografi lapis tipis silika gel F₂₅₄, reagen Dragendorff, uap amonia, FeCl₃, vanilin-H₂SO₄, metanol pa (Emsure), dikloromotana pa (Emsure).

2.1 Preparasi sampel tanah

Pengambilan sampel tanah muara dengan menggunakan pipa untuk mendapatkan tanah bagian atas (5 cm tanah yang terambil pada bagian atas pipa), bawah (5 cm tanah terbawah pada pipa) dan tengah (tanah ditengah tengah pipa). Sampel tanah sungai yang didapat ditimbang 10 g kemudian dimasukkan ke *tube* dan ditambahkan aquadest steril melalui spuit injeksi. Sampel kemudian dihomogenkan dengan cara divortex yang setelah itu di sentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit.

2.2 Pembiakan fungi tanah

Campuran sampel tanah yang telah memisah diambil supernatannya sebanyak 100µL secara aseptis menggunakan mikropipet. Sampel kemudian dipindahkan ke atas media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan diratakan menggunakan *spreader*. Inkubasi dilakukan pada suhu ruangan $28 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 7 hari.

2.3 Isolasi dan pemurnian fungi tanah

Isolasi fungi tanah muara sungai diawali dengan melakukan pengamatan terhadap koloni fungi yang tumbuh, diamati berdasarkan perbedaan morfologinya dari bentuk maupun warnanya. Fungi tanah muara yang mempunyai perbedaan morfologi dipisahkan dengan cara diambil menggunakan ose lalu masing-masing dipindahkan ke media *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang baru.

2.4 Skrining awal aktivitas antibakteri

Skrining dilakukan dengan metode uji kontak langsung atau uji antagonis fungi dengan bakteri uji. Potongan isolat fungi dengan diameter 1 cm ditempelkan pada media *Muller Hinton Agar* (MHA) yang sebelumnya sudah dilakukan kultur bakteri uji dengan cara bakteri dipipet sebanyak 100 µL dan diratakan dengan *spreader* pada media MHA. Uji antagonis fungi dan bakteri uji diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

2.5 Fermentasi

Fermentasi dilakukan dengan memasukkan potongan isolat berdiameter 0,9 cm ke dalam media *Potato Dextrose Broth* (PDB) sebanyak 200 mL. Inkubasi dilakukan pada suhu 28°C selama 14 hari sampai fungi tanah dengan kecepatan agitasi 125 rotasi per menit sampai mencapai fase stationer.

2.6 Ekstraksi

Proses ekstraksi dilakukan dengan menambahkan etil asetat pada media hasil fermentasi dengan perbandingan 1:1 dan dilakukan sebanyak 2-3 kali partisi. Hasil ekstraksi dikumpulkan dan etil asetat kemudian diuapkan dalam lemari asam hingga. Hasil ekstraksi setelah penguapan kemudian ditimbang bobotnya dan disimpan.

2.7 Uji aktivitas antibakteri

Uji Aktivitas Antibakteri dilakukan dengan mengacu pada protokol standar *Clinical and Laboratory Standart Institute* (CLSI)(CLSI, 2015) menggunakan konsentrasi tunggal yaitu 100µg/mL.

2.8 Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan metode KLT dilanjutkan dengan perekasi warna. Larutan ekstrak (1 mg/mL) ditotolkan pada lempeng KLT (20 µL) kemudian dieluasi

menggunakan eluen campuran diklorometan: methanol (9:1). Lempengan KLT kemudian direaksikan dengan reagen dragendorff untuk deteksi alkaloid yang akan menghasilkan noda berwarna jingga, uap ammonia untuk mendeteksi flavonoid yang akan menghasilkan noda berwarna kuning intensif, FeCl₃ untuk deteksi polifenol akan membentuk noda berwarna hitam, vanillin asam sulfat untuk mendeteksi terpenoid dan fenolat akan menghasilkan warna ungu-merah muda.

2.9 Analisis data

Hasil percobaan uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat hasil fermentasi isolat fungi tanah terhadap *Staphylococcus aureus* dengan metode mikrodilusi akan didapatkan data absorbansi. Dari hasil pengukuran absorbansi penghambatan pertumbuhan bakteri dapat dihitung persamaan 1.

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

Persamaan 1. Rumus pengukuran absorbansi penghambatan pertumbuhan bakteri. Absorbansi (abs); kontrol negatif ekstrak/gentamisin (A); kontrol DMSO 1% atau media CAMHB (B); larutan uji ekstrak/gentamisin (C); kontrol ekstrak/gentamisin (D).

3. Hasil dan Pembahasan

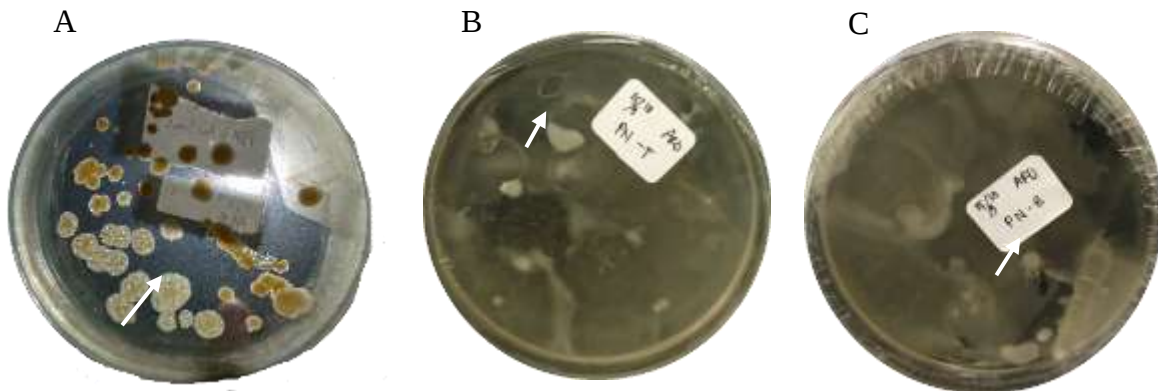
3.1 Pembiakan fungi tanah

Pembiakan fungi tanah dilakukan pada sampel tanah yang diambil pada bagian atas, tengah dan bawah yang bertujuan untuk melihat perbedaan jenis, jumlah dan aktivitas antibakteri fungi tanah berdasarkan kedalaman tanah. Koloni yang tumbuh dari sampel tanah yang diambil dari bagian atas, tengah dan bawah pipa penyimpan sampel tanah (Gambar 1). Beberapa koloni mempunyai bentuk yang berfilamen dan *irregular*, memiliki warna koloni putih dan putih kekuningan dengan permukaan yang halus (Gambar 1). Ciri-ciri koloni tersebut menunjukkan kemiripan antara mikroorganisme yang tumbuh sebagai khamir atau bakteri khususnya aktinomisetes. Namun yang menjadi pembeda koloni sampel tanah muara sungai tersebut mempunyai koloni yang berukuran besar sedangkan jika bakteri mempunyai koloni yang kecil-kecil seperti titik dan cenderung saling terpisah (Sousa *et al*, 2013). Media yang digunakan yaitu *potato dextrose agar* yang merupakan media yang banyak digunakan dalam kultur jamur tanah (Watanabe, 2010).

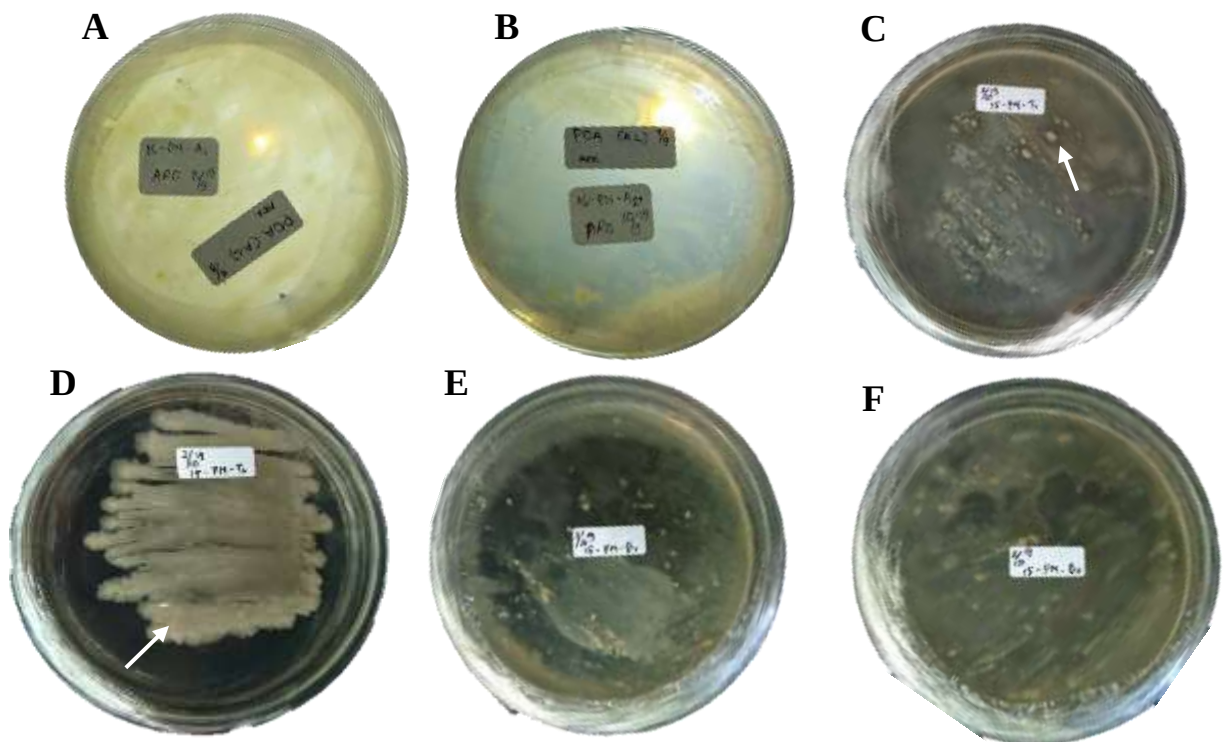
3.2 Isolasi dan pemurnian fungi tanah

Isolasi dan pemurnian fungi tanah dilakukan untuk pengamatan secara morfologi biakan koloni yang tumbuh dalam media PDA. Terdapat 6 isolat yang diambil dari sampel tanah bagian atas, tengah dan bawah (Gambar 2). Isolat diberi kode nama IS-PN-A1 (A) diambil dari biakan koloni fungi berwarna putih sedangkan IS-PN-A2 (B) diambil dari biakan koloni

fungi berwarna putih kekuningan. Isolat yang diberi kode IS-PN-T1 (C) diambil dari koloni dengan warna putih kekuningan, permukaan yang tipis dan halus serta koloni yang berbentuk *irregular*. IS-PN-T2 (D) diambil dari koloni berwarna putih dan mempunyai permukaan lebih tebal serta koloni nya berbentuk filamen. Isolat yang diberi kode IS-PN-B1 (E) diambil dari koloni berwarna putih sedangkan IS-PN-B2 (F) diambil dari koloni yang berwarna kuning kecoklatan.

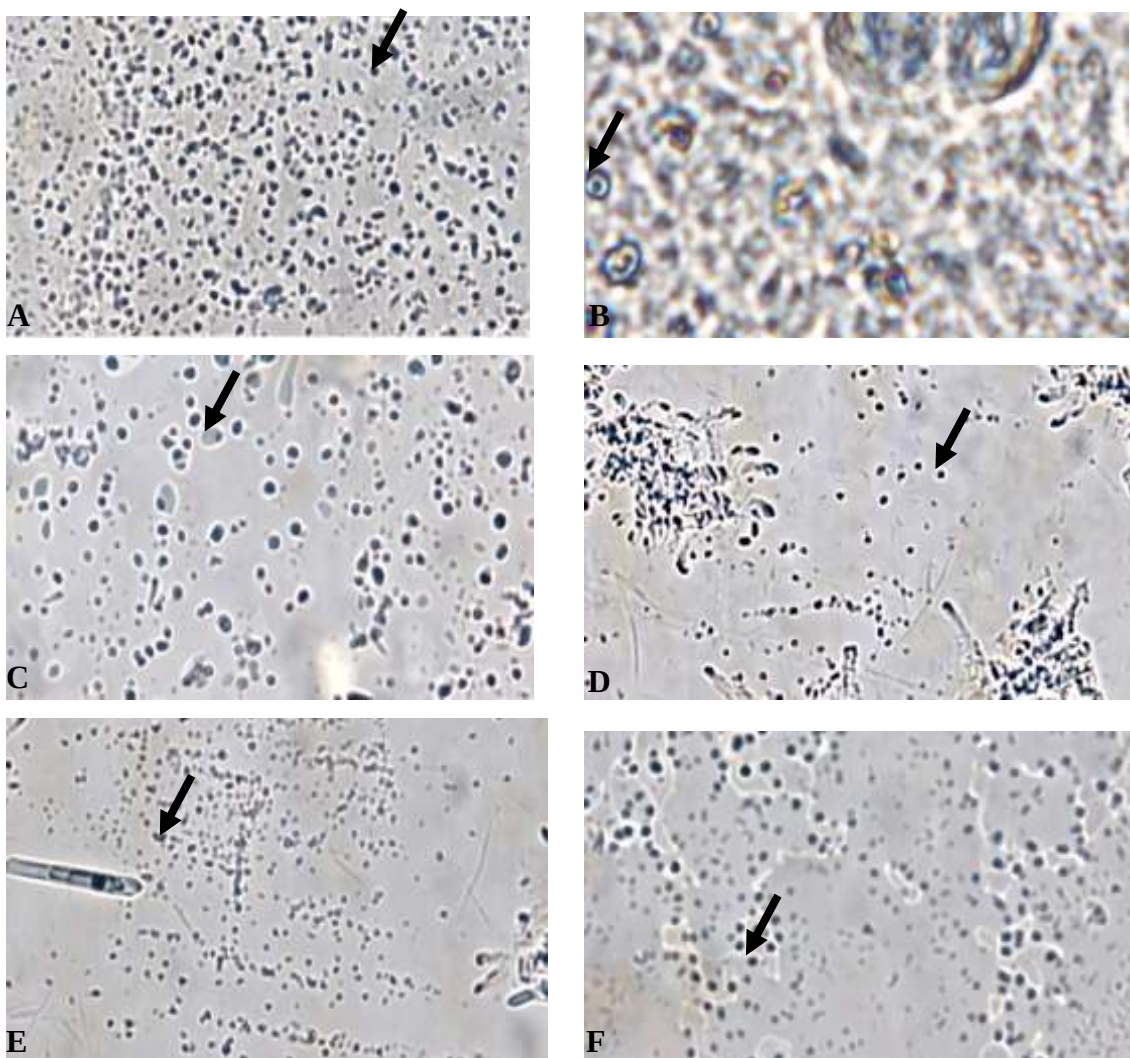


Gambar 1. Biakan fungi tanah muara sungai sampel tanah bagian atas (A), tengah (B), bawah (C) dari pipa penyimpanan sampel tanah yang dibiakkan selama 7 hari pada media PDA. Tanda panah menunjukkan bentuk filamen pada biakan fungi tanah A sedangkan bentuk *irregular* pada biakan fungi tanah B dan C.



Gambar 2. Isolat fungi tanah muara IS-PN-A1 (A), IS-PN-A2 (B), IS-PN-T1 (C), IS-PN-T2 (D), IS-PN-B1 (E), IS-PN-T2 (F) satu kali proses pemurnian. Biakan fungi tanah D menunjukkan bentuk filamen sedangkan biakan fungi tanah lainnya berbentuk *irregular*.

Pengamatan secara mikroskopis bertujuan untuk melihat morfologi sel biakan fungi tanah. Hasil pengamatan secara mikroskopis pada 6 isolat fungi tanah dapat dilihat pada Gambar 3. Morfologi sel yang tumbuh berbentuk bulat juga beberapa berbentuk oval dengan inti sel ditengahnya. Mikroorganisme yang menunjukkan ciri-ciri dengan sel berbentuk bulat yaitu fungi jenis khamir dan bakteri dengan famili aktinomisetes. Khamir merupakan mikroorganisme eukariotik uniseluler yang secara mikroskopis dapat dilihat berupa sel bulat atau berbentuk oval seperti telur dengan inti ditengahnya (Sabdaningsih, 2016) sedangkan bakteri merupakan mikroorganisme prokariotik dengan sel berbentuk bulat atau oval namun tidak memiliki inti sel (Pepper & Gentry, 2015). Untuk memastikan spesies dari fungi tersebut perlu dilakukan identifikasi filogenetik lebih lanjut menggunakan metode PCR (LoBuglio *et al*, 1995).



Gambar 3. Hasil mikroskopis isolat IS-PN-A1 (A), IS-PN-A2 (B), IS-PN-T1 (C), IS-PN-T2 (D), ISPN B1 (E), IS-PN-B2(F) dengan perbesaran 400x. Tanda panah menunjukkan sel yang berbentuk bulat dengan inti sel ditengah.

3.3 Skrining aktivitas antibakteri

Skrining aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui isolat yang mempunyai potensi penghambatan pertumbuhan bakteri. Skrining aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengamati zona bening yang terbentuk setelah uji kontak langsung antara isolat dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Metode ini telah banyak digunakan untuk mengetahui potensi aktivitas antibakteri yang dihasilkan fungi tanah (Balouiri *et al*, 2016). Ekstrak fungi akan memberikan aktivitas yang lebih besar daripada isolat fungi yang dikontakkan langsung dengan bakteri (Sara Ramírez *et al.*, 2015). Hasil yang didapatkan dari uji kontak langsung ditunjukkan dalam Gambar 4 dimana isolat IS-PN-A1, IS-PN-A2, IS-PN-T1, IS-PN-T2, IS-PN-B1, IS-PN-B2 menunjukkan adanya hambatan berupa diameter zona bening yang terbentuk pada keseluruhan isolat.



Gambar 4. Gambar hasil uji kontak isolat IS-PN A1, IS-PN-A2 (A) dan IS-PN-T1, IS-PN-T2, IS-PN-B1, IS-PN-B2 (B) yang menunjukkan adanya zona bening pada semua isolat yang diuji kontak.

3.4 Uji aktivitas antibakteri

Pengujian ini menggunakan metode mikrodilusi untuk mengetahui persen penghambatan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Ekstrak fungi tanah yang diuji dengan metode mikrodilusi pada percobaan ini dilakukan menggunakan konsentrasi tunggal yaitu 100 µg/mL. Persen penghambatan gentamisin menunjukkan nilai rata-rata konsentrasi gentamisin sebesar $99,7 \pm 0,1$ % (Tabel 1). Persen penghambatan yang dipersyaratkan untuk konsentrasi gentamisin 0,5-2 µg/mL yaitu $\geq 80\%$ (CLSI, 2015). Berdasarkan hasil yang didapatkan, metode mikrodilusi dalam pengujian aktivitas antibakteri ekstrak fungi tanah dikatakan baik karena kontrol positif yang digunakan yaitu gentamisin memenuhi persyaratan CLSI.

Kosolven yang digunakan untuk membantu melarutkan ekstrak yaitu DMSO karena merupakan kosolven yang dapat melarutkan senyawa polar dan non polar (Kirkwood *et al*,

2018). Konsentrasi DMSO yang digunakan yaitu 1% jika menggunakan konsentrasi lebih dari 1% dikhawatirkan akan menghasilkan positif palsu karena DMSO juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Kirkwood *et al*, 2018). Kontrol DMSO dipakai untuk memastikan bahwa kosolven yang digunakan tidak mempengaruhi aktivitas ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Tabel 1 (Persen penghambatan DMSO) menunjukkan bahwa DMSO tidak mempengaruhi penghambatan pertumbuhan bakteri karna persen penghambatan yang didapatkan hanya $0,8 \pm 0,2\%$ Sehingga dapat dipastikan bahwa penggunaan DMSO 1% tidak akan menghasilkan aktivitas yang bersifat positif palsu.

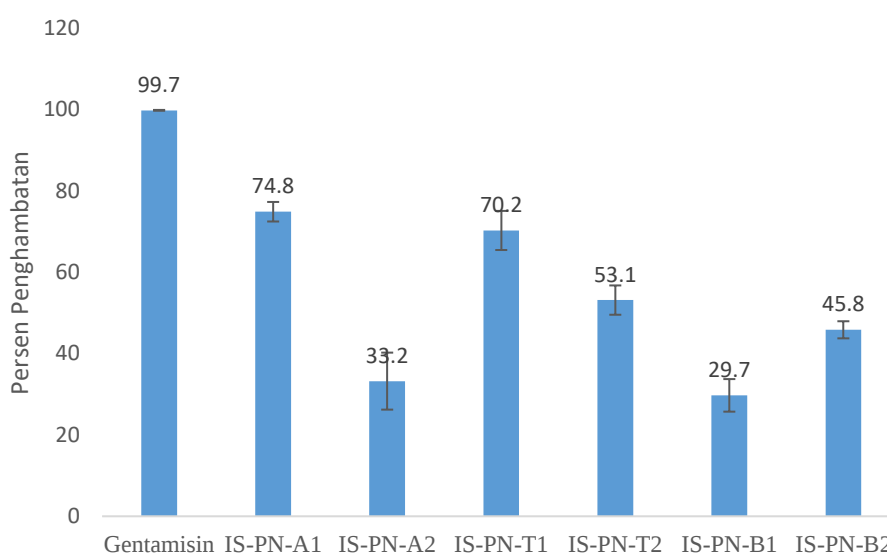
Media yang digunakan adalah CAMHB yang direkomendasikan oleh CLSI agar kadar kation Mg^{2+} dan Ca^{2+} dalam media *Mueller Hinton* bisa terstandar karena media MHB yang beredar seringkali memiliki kadar kation Mg^{2+} dan Ca^{2+} yang berbeda. Apabila terdapat perbedaan kation tersebut akan berpengaruh pada aktivitas agen antibakteri karena kation tersebut mempengaruhi integritas membran sel bakteri sehingga standarisasi kation menjadi penting untuk dilakukan (Ramirez-Ronda, *et al*, 1975).

Tabel 1. Persen penghambatan ekstrak fungi tanah diisolasi dari muara sungai Desa Kilensari terhadap bakteri *P. aeruginosa*.

Replikasi	Persen Penghambatan Gentamisin (%)	Persen Penghambatan DMSO (%)	Persen Penghambatan Ekstrak Fungi Tanah (%)					
			IS-PN-A1	IS-PN-A2	IS-PN-T1	IS-PN-T2	IS-PN-B1	IS-PN-B2
1	99,6	1,0						
2	99,7	0,7	74,	33,2	70,2	53,1	29,7	45,8
3	99,8	0,8	$8 \pm$	$\pm 7,0$	$\pm 4,8$	$\pm 3,6$	$\pm 4,0$	$\pm 2,1$
Rata-Rata	99,7	0,8	2,4					
SD	0,1	0,2						

Uji aktivitas antibakteri ini menunjukkan bahwa ekstrak fungi tanah memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Persen penghambatan yang dihasilkan masing-masing ekstrak fungi tanah ditunjukkan oleh Tabel 1. Persen penghambatan terbesar dihasilkan oleh ekstrak fungi tanah IS-PN-A1 dengan nilai sebesar $74,8 \pm 2,4 \%$ sedangkan nilai persen penghambatan terkecil dihasilkan ekstrak fungi tanah IS-PN-B1 dengan nilai sebesar $29,7 \pm 4,0 \%$. Persen penghambatan masing-masing ekstrak dengan kontrol positif gentamisin ditunjukkan pada Gambar 5. Persen pengambatan isolat terhadap bakteri uji menghasilkan nilai dibawah persen penghambatan gentamisin terhadap bakteri uji. Penelitian sebelumnya menggunakan metode uji antibakteri difusi cakram dengan konsentrasi adalah 1000 $\mu\text{g/mL}$, 2000 $\mu\text{g/mL}$, 4000 $\mu\text{g/mL}$, 6000 $\mu\text{g/mL}$, 8000 $\mu\text{g/mL}$ menghasilkan rata-rata zona hambat yaitu 6, 43; 7,13; 8,17; 9,40; 11,40 milimeter (Pamungkas, 2021).

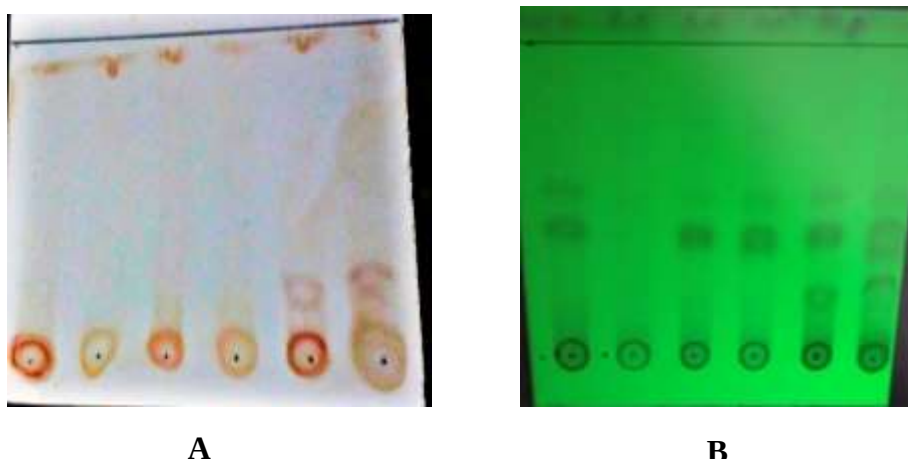
Penelitian sebelumnya menunjukkan banyak mikroorganisme tanah yang mempunyai aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Isolasi jamur terhadap beberapa sampel tanah yang diambil dari 5 lokasi berbeda di India menghasilkan 65 isolat. Diketahui 80% dari jumlah isolat yang diperoleh mempunyai aktivitas antibakteri (Thakur *et al*, 2007). *Screening* aktivitas antibakteri fungi tanah juga dilakukan di Brazil. Hasil yang didapatkan yaitu sebanyak 67% ekstrak fungi tanah dari 200 isolat mempunyai aktivitas antibakteri (Takahashi *et al*, 2008). Penelitian ini juga membuktikan bahwa terdapat potensi aktivitas fungi tanah muara sungai yang potensial. Perbedaan persen penghambatan yang diperoleh dari masing-masing isolat menunjukkan bahwa terdapat kemungkinan senyawa yang berbeda dalam suatu golongan senyawa tertentu yang terdapat dalam fungi tanah muara dan berperan sebagai agen antibakteri. Alkaloid juga merupakan golongan senyawa yang dapat ditemukan dalam isolat fungi tanah yang memiliki aktivitas antibakteri (Pamungkas, 2021). Bikaverin merupakan salahsatu senyawa yang berperan sebagai agen atibakteri. Senyawa tersebut didapatkan dari isolat fungi dengan spesies *Fusarium sp* (Deshmukh *et al*, 2014). Spesies *Penicillium* juga diperoleh dari hasil isolasi tanah daerah Cerrado, Brazil. Isolat tersebut menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang tinggi pada senyawa metabolit sekunder yang didapatkan yaitu 6-acetyl-4-methoxy-5,7,8- trihydroxynaphthalene-2-carboxylate (Petit *et al* , 2009). Fungi dengan spesies *Aspergillus terreus* yang diisolasi dari tanah di Ecuador, Chile menghasilkan 3 metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas sebagai agen antibakteri. Diantaranya adalah *terreic acid* dan *butyrolactone* (Cazar *et al*, 2005).



Gambar 5. Persen penghambatan masing-masing ekstrak dan gentamisin terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang dianalisis secara statistik.

3.5 Skrining fitokimia

Skrining fitokimia digunakan untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan uji aktivitas antibakteri pada ekstrak daun anyang-anyang menunjukkan hasil positif mengandung senyawa terpenoid karena terdapat noda berwarna ungu (Savitri, 2020) sedangkan penelitian yang dilakukan pada ekstrak tanaman senggugu diketahui aktivitas antibakteri yang paling baik dicapai oleh fraksi n-heksana dengan kandungan steroid dan terpenoid (Maulana, 2020). Dalam penelitian ini, profil kromatogram menunjukkan rata-rata dua noda pada masing masing ekstrak, kecuali ekstrak IS-PN-A2 tidak muncul noda (Gambar 6). Senyawa mayor pada Rf 0.45 dan 0.55 muncul pada semua ekstrak, kecuali IS-PN-A2. Senyawa yang lebih polar pada Rf 0.20 dan 0.25 hanya muncul pada ekstrak dengan kode ISPN B1, IS-PN-B2.



Gambar 6. Profil kromatogram ekstrak fungi tanah (dari kiri ke kanan, IS-PN-A1, IS-PN-A2, IS-PN-T1, IS-PN-T2, ISPN B1, IS-PN-B2). Eluen pengembang berupa diklorometan: methanol (9: 1), visualisasi dibawah sinar UV 254 nm (A) dan dengan reagen semprot vanillin asam sulfat setelah dilakukan pemanasan (B).

Hasil deteksi senyawa menggunakan reagen semprot dirangkum dalam Tabel 2. Dari semua reagen yang digunakan, hanya reagen vanillin-asam sulfat yang menghasilkan warna deteksi yang positif berupa merah-ungu (Gambar 6). Warna merah-ungu ditunjukkan pada ekstrak ISPN B1 (noda dengan Rf 0.20) IS-PN-B2 (noda dengan Rf 0.25). Golongan senyawa terpenoid yang mungkin ditemukan dalam isolat fungi tanah dapat memiliki mekanisme sebagai bakterisidal maupun bakteriostatik (Mahizan *et al*, 2019).

Tabel 2. Hasil identifikasi ekstrak fungi tanah diisolasi dari muara sungai Desa Kilensari dengan pereaksi warna.

Jenis Identifikasi	Pereaksi	Hasil (warna noda)
Alkaloid	Dragendorff's reagent	-
Fenol	FeCl ₃	-
Terpenoid	Vanilin Asam Sulfat	+ (merah muda)
Flavonoid	Uap Amonia	-

4. Kesimpulan

Penelitian yang telah dilakukan menyimpulkan baik pengamatan secara makroskopis maupun mikroskopis bahwa mikroorganisme yang tumbuh yaitu fungi dengan jenis khamir. Fungi tanah muara sungai Desa Kilensari Kecamatan Panarukan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Fungi tanah muara dengan nama isolat IS-PN-A1 menghasilkan persen penghambatan sebesar $74,8 \pm 2,4$ %; IS-PN-A2 $33,2 \pm 7,0$ %; IS-PN-T1 $70,2 \pm 4,8$ %; IS-PN-T2 $53,1 \pm 3,6$ %; IS-PN-B1 $29,7 \pm 4,0$ %; IS-PN-B2 $45,8 \pm 2,1$ %.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Universitas Jember atas dukungan fasilitas penelitian.

Deklarasi Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

Daftar Pustaka

- Balouiri, M., Sadiki, M., dan Ibensouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity : A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2): pp.71–79. 10.1016/j.jpha.2015.11.005
- Cazar, M. E., Schmeda-Hirschmann, G., dan Astudillo, L. (2005). Antimicrobial butyrolactone I derivatives from the Ecuadorian soil fungus *Aspergillus terreus* Thorn. var *terreus*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(6): pp.1067-1075. 10.1007/s11274-004-8150-5
- Clinical and laboratory standards Institute (CLSI), (2015), *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically*, 10 Edition, Wayne : CLSI supplement M07-A10.USA.
- Deshmukh, R., Mathew, A., & Purohit, H. J. (2014). Characterization of antibacterial activity of bikaverin from *Fusarium* sp . HKF15. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 117(4): pp.443–448. 10.1016/j.jbiosc.2013.09.017
- Karwehl, S., dan Stadler, M. (2016). Exploitation of Fungal Biodiversity for Discovery of Novel Antibiotics. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 398: pp.303-338. 10.1007/82_2016_496.
- Kementerian Kesehatan RI. (2018). *Data dan Informasi Profil Kesehatan Indonesia*. Kementerian Kesehatan RI, Jakarta, Indonesia.
- Khandavilli, R., Meena, R., & Bd, S. (2016). Fungal Phylogenetic Diversity in Estuarine Sediments of Gautami. *Current Research in Enviomental &Appllied Mycology*, 6(4): pp.268–276. 10.5943/cream/6/4/4
- Kirkwood, Z. I., Millar, B. C., Downey, D. G., dan Moore, J. E. (2018). Antimicrobial effect of dimethyl sulfoxide and N, N-Dimethylformamide on *Mycobacterium abscessus*: Implications for antimicrobial susceptibility testing. *International journal of mycobacteriology*, 7(2): pp.134. 10.4103/ijmy.ijmy
- LoBuglio, K. F., & Taylor, J. W. (1995). Phylogeny and PCR identification of the human pathogenic fungus *Penicillium marneffeii*. *Journal of clinical microbiology*, 33(1), 85-89.
- Mahizan, N. A., Yang, S. K., Moo, C. L., Song, A. A. L., Chong, C. M., Chong, C. W., Abushelaibi, A., Lim, S.H.E. dan Lai, K. S. (2019). Terpene derivatives as a potential agent against antimicrobial resistance (AMR) pathogens. *Molecules*, 24(14): pp.2631. 10.3390/molecules24142631

- Maulana, I. A., Triatmoko, B., & Nugraha, A. S. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Tanaman Senggugu (*Rotheca serrata* (L.) Steane & Mabb.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 5(1), 01-11.
- O'Neill, J. (2016). Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf. [Accessed 23th June 2021].
- Pamungkas, F.B, Triatmoko, B., dan Nugraha, A. S.. 2021. Penelusuran Dan Isolasi Fungi Tanah Kabupaten Situbondo Serta Skrining Aktivitas Antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 19(1): pp. 73-79. 10.35814/jifi.v19i1.750
- Pepper, I. L., dan Gentry, T. J. (2015). Earth Environments.in Pepper, I.L., Gerba, C.P., dan Gentry, T. J. *Environmental Microbiology*, 59-88. Amsterdam, Elsevier. 10.1016/B978-0-12-394626-3.00004-1.
- Petit, P., Lucas, E. M., Abreu, L. M., Pfenning, L. H., dan Takahashi, J. A. (2009). Novel antimicrobial secondary metabolites from a *Penicillium* sp. isolated from Brazilian cerrado soil. *Electronic Journal of Biotechnology*, 12(4): pp.8-9. 10.2225/vol12-issue4-fulltext-9
- Ramirez-Ronda, C. H., Holmes, R. K., dan Sanford, J. P. (1975). Effects of divalent cations on binding of aminoglycoside antibiotics to human serum proteins and to bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 7(3): pp.239–245. 10.1128/aac.7.3.239
- Sabdaningsih, A., Radjasa, O. K., Sabdono, A., dan Trianto, A.(2016) Bioprospecting of Fungi Associated with *Cladiella* sp. as Antibacterial-MDR against *Acinetobacter baumannii* from Panjang Island Vicinity. *IPCB 2016*, 123.
- Sara Ramírez, R., Arias M., J. D., Bedoya, J. C., Rueda L., E. A., Sánchez, C. Y., & Granada G., S. D. (2015). Metabolitos producidos por microorganismos antagonistas son capaces de inhibir in vitro los principales patógenos del aguacate. *Agronomia Colombiana*, 33(1): pp.58–63. 10.15446/agron.colomb.v33n1.48241
- Savitri, G. R., Triatmoko, B., & Nugraha, A. S. (2020). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Tumbuhan Anyang-Anyang (*Elaeocarpus grandiflorus* JE Smith.) terhadap *Escherichia coli*. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 5(1), 22-32.
- Sousa, A. M., Machado, I., Nicolau, A., dan Pereira, M. O. (2013). Improvements on colony morphology identification towards bacterial profiling. *Journal of microbiological methods*, 95(3): pp.327-335.10.1016/j.mimet.2013.09.020
- Srividya, A. R., Saritha, G. S., dan Suresh, B. (2008). Study of the soil isolates for antimicrobial activity. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70(6): pp.812–815. 10.4103/0250-474X.49132
- Takahashi, J. A., de Castro, M. M., Souza, G. G., Lucas, E. M., Bracarense, A. A., Abreu, L. M., Marriel, I.E., Oliveira, M.S., Floreano, M.B., dan Oliveira, T. S. (2008). Isolation and screening of fungal species isolated from Brazilian cerrado soil for antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus pyogenes* and *Listeria monocytogenes*. *Journal de Mycologie Médicale*, 18(4): pp.198-204. 10.1016/j.mycmed.2008.08.001
- Taylor, P., Pepper, I. L., Gerba, C. P., Newby, D. T., dan Rice, C. W. (2009). Soil : A Public Health Threat or Savior ?. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 39(5): pp.416-432.10.1080/10643380701664748
- Thakur, D., Yadav, A., Gogoi, B. K., dan Bora, T. C. (2007). Isolation and screening of *Streptomyces* in soil of protected forest areas from the states of Assam and Tripura, India, for antimicrobial metabolites. *Journal de Mycologie Médicale*, 17(4): pp.242-249. 10.1016/j.mycmed.2007.08.001

- Watanabe, T. (2010). *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species*. New York: CRC Press.
- WHO. (2014). *Antimicrobial Resistance*. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748_eng.pdf?sequence=1. [Accessed, 23th June 2021].
- Wibowo, M. S., Julianti, E., dan Radzali, M. D. (2017). Isolation and antibacterial activity of soil-derived fungi from Taman Botani Negara, Shah Alam, Malaysia. *Acta Pharmaceutical Indonesia*, 42(1): pp.18-24.



© 2021 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).

Pengaruh Media Kartu Tilik Terhadap Pengetahuan dan Perilaku Pengelolaan Obat Dagusibu di Jakarta Pusat Berdasarkan *Home Pharmacy Care*

Adin Hakim Kurniawan*, Yusmaniar dan Purnama Fajri

Prodi Farmasi, Poltekkes Kemenkes Jakarta II, Jl. Percetakan Negara no 23, Indonesia 10560

*e-mail korespondensi: adin.hakim@poltekkesjkt2.ac.id

Received 26 July 2020, Accepted 31 May 2021, Published 15 July 2021

Abstrak: Penyimpanan dan pembuangan obat kurang tepat menjadi masalah pengelolaan obat yang berdampak negatif pada kesehatan masyarakat. Hubungan perilaku negatif pada pengelolaan obat di rumah tangga, lebih cenderung berisiko bagi pasien dengan riwayat penyakit degeneratif dan polifarmasi. Kepedulian tenaga farmasi terhadap pelayanan kefarmasian untuk pasien penyakit degeneratif, diwujudkan dalam kegiatan *home pharmacy care*. Edukasi kesehatan melalui pemberian aplikator media kartu tilik merupakan segala upaya yang direncanakan dengan cara membantu mengatasi pasien dalam penataan pengelolaan dagusibu obat di rumah tangga. Tujuan pada penelitian yaitu menganalisis Pengaruh Kartu Tilik terhadap Perilaku Pengelolaan Dagusibu Obat pada masyarakat di wilayah Jakarta Pusat berdasarkan *Home Pharmacy Care*. Jenis penelitian adalah observasional dengan sistem rancang penelitian *crosssectional*. Teknik dalam pengambilan sampel *Cluster random sampling*. Analisis statistik menggunakan bivariat. Analisis inimenjelaskanadanya pengaruh yang signifikan media kartu tilik terhadap pengetahuan pengelolaan obat ($p=0,024$; OR 2,526); terhadap perilaku pengelolaan obat ($p=0,031$ OR 2,865). Kesimpulan memiliki hubungan yang bermakna antara media kartu tilik terhadap pengetahuan dan perilaku pengelolaan Obat Dagusibu berdasarkan *home pharmacy care*.

Kata Kunci: Kartu tilik; Perilaku; Pengelolaan Dagusibu

Abstract. The influence of a house visit card on the behavior of dagusibu drug management based on home pharmacy care. Drug management is a potential public health problem due to the risk of improper storage and disposal of drugs. Negative behavior relationship in household drug management could provide a considerable risk, especially to the patient with a history of degenerative disease and closely related to polypharmacy. Pharmacist care in health services for sufferers of degenerative diseases is manifested in-home pharmacy care activities. Health education by giving a media card applicator all efforts planned to help patients manage dagusibu drugs in the household. The purpose of this study can analyze the Influence of a house visit card on drug management behavior in Central Jakarta. The sampling technique used by the author is cluster random sampling. Statistical analysis using bivariate with the statistical test used was the chi-square test. The bivariate analysis results showed a significant influence of media house visit cards on knowledge of drug management ($p = 0.024$; OR 2.526); towards drug management attitudes ($p = 0.023$; OR 2.584). The conclusion has a significant relationship between media house visit cards on the behavior of Dagusibu Drug management based on home pharmacy care (p -value 0.031; OR value 2.865).

Keywords: House Visit Card; Behaviour; Dagusibu Management

1. Pendahuluan

Pengelolaan obat *ethical* dan OTC di seluruh dunia, umumnya dapat digunakan sebagai indikasi sehari-hari dalam menangani penyakit akut atau kronis. (Wieczorkiewicz *et al.*, 2013). Pembiayaan obat yang meningkat dan jumlah penggunaan obat yang tinggi di rumah tangga memiliki pengaruh perilaku sikap dan tindakan bagi pasien, lingkungan keluarga terutama orang tua lansia yang terdapat komorbid penyakit degeneratif dan total item obat meningkat banyak di rumahnya (Martins *et al.*, 2017). Obat telah menjadi masalah kesehatan yang potensial dalam beberapa tahun terakhir karena risiko pembuangan dan simpan yang kurang tepat. Peraturan publik di berbagai negara kurang mengatur pembuangan obat, yang menjadikan dampak meluasnya limbah domestik dan alur pembuangan menjadi tidak teratur sehingga terjadinya polusi lingkungan (Rambhade *et al.*, 2012).

Pelayanan kesehatan dapat diwujudkan secara optimal, untuk itu diperlukan suatu bentuk *pharmaceutical care* terhadap pasien dengan riwayat penyakit degeneratif. Wujud dari asuhan kefarmasian yang diberikan oleh tenaga farmasi dalam pelayanan kesehatan terhadap pasien degeneratif melalui asuhan kefarmasian rumah tangga (*home pharmacy care*) (MacKeigan & Nissen, 2008).

Kegiatan *home pharmacy care* merupakan cara mendampingi pasien oleh tenaga kefarmasian ketika memberikan pelayanan asuhan kefarmasian di satu rumah tangga dengan memberikan *informed consent* kepada anggota keluarganya (American Society of Health-System Pharmacists, 2006). Edukasi kesehatan melalui pemberian aplikasi media kartu tilik merupakan segala upaya yang direncanakan untuk membantu pasien dalam penataan pengelolaan dagusibu obat di rumah tangga. Apoteker dapat melakukan observasi melalui media kartu tilik sekaligus memberikan stiker labelisasi di kotak penyimpanan obat yang berisi edukasi cara melakukan pengelolaan dagusibu obat ini secara baik dan benar, sehingga masyarakat tidak sengaja maupun disengaja menyadari, mengetahui, namun dapat menjalankan anjuran kesehatan (DepKes RI, 2008).

Memberikan nilai edukasi pasien tentang penggunaan obat dengan riwayat penyakit degeneratif seperti jantung dan hipertensi, TBC, Asma dan lain-lain salah satu bentuk dari pelayanan asuhan kefarmasian di rumah tangga. *Drug related problem* timbul akibat rendahnya nilai edukasi pengetahuan mengenai pengelolaan dagusibu obat dari tindakan perilaku kesehatan (Ensing *et al.*, 2018). Tindakan yang bukan dilandasi dengan nilai edukasi dan tindak kesadaran maka nilai perilaku akan menjadi negatif dan cenderung lama berproses, sedangkan sebaliknya pada nilai edukasi dan tindak kesadaran yang positif akan lebih lama bermanfaat (Notoatmodjo, 2007).

Penelitian tentang perilaku pengelolaan Dagusibu Obat pernah dilakukan oleh beberapa peneliti, namun penelitian ini seringkali hanya melakukan edukasi dilapangan berupa simulasi penyuluhan tanpa dilakukan *home to home* dengan pengecekan langsung dengan media kartu tilik. Risiko pasien yang memiliki masalah berhubungan dengan obat biasanya pasien dengan kriteria tersebut, misalnya riwayat penyakit sebelumnya (komorbiditas), pasien lansia, lingkungan, karakteristik jenis obat, pengobatan yang kompleks, kebingungan, serta kurangnya edukasi pengetahuan dan keterampilan menggunakan obat (Ahmad, 2019). Cara untuk mengatasi hal tersebut diperlukan penelitian serupa tetapi dibutuhkan evaluasi dan pelaporan berupa kartu media tilik dengan mengambil keseluruhan populasi yang lebih luas, khususnya yang kami lakukan di wilayah Jakarta Pusat. Berdasarkan uraian tersebut diperlukan sebuah penelitian yang berhubungan dengan peran tenaga kefarmasian terutama Apoteker dalam menjalankan pelayanan kefarmasian di rumah dengan memberikan informasi dengan menggunakan aplikator kartu tilik obat dan stiker label. Permasalahan tersebut diharapkan dapat meningkatkan perilaku pengelolaan dagusibu obat khususnya masyarakat di wilayah Jakarta Pusat. Tujuan dari penelitian ini adalah memberikan kesadaran pengetahuan dan perilaku masyarakat melalui media kartu tilik obat di wilayah Jakarta Pusat berdasarkan *Home Pharmacy*.

2. Metode

Jenis penelitian ini melalui pendekatan deskriptif kuantitatif dengan desain *cohort prospective*. Variabel independen berupa media kartu tilik, sedangkan variabel terikatnya adalah pengetahuan dan perilaku pengelolaan dagusibu obat.

Populasi terlibat dalam penelitian adalah masyarakat datang berobat ke puskesmas kecamatan yang berada di wilayah Jakarta Pusat. Jenis sampel pada penelitian yaitu *cluster sampling*. Perolehan sampel berasal dari dua kecamatan wilayah Johar Baru dan Cempaka Putih sebanyak 116 responden. Subjek uji dibagi menjadi dua kelompok perlakuan yaitu kelompok mendapatkan kartu tilik dan media kotak yang diberi dagusibu (Gambar 1) dan kelompok yang tidak mendapatkan kartu tilik tetapi hanya mendapatkan media kotak obat tanpa diberikan stiker dagusibu (kontrol).

Variabel bebas pada penelitian adalah kartu kunjungan dan stiker tempel dagusibu obat dengan metode *Home Pharmacy Care*. Poltekkes kemenkes Jakarta 2 merupakan institusi yang mengeluarkan *ethical approved* dengan nomor LB.02.01/I/KE/38/464/2019 KPEK-PKJ II.

Kriteria inklusi responden adalah antara lain : (1) bertempat tinggal di wilayah Johar Baru dan Cempaka Putih dan memiliki identitas KTP, (2) bersedia menjadi responden

dibuktikan dengan *lembar persetujuan* dan *naskah penjelasan*, (3) riwayat pasien berobat dan memiliki komorbid penyakit bawaan atau degeneratif, (4) mendapatkan atau tidak mendapatkan persepsian obat dan (5) satu kepala keluarga dari tiap rumah. Kriteria eksklusi penelitian meliputi : (1) responden yang menjalankan perawatan di rumah sakit, (2) bermasalah pada kondisi penglihatan dan (3) meninggal saat penelitian berlangsung. Prosedur pengambilan data menggunakan instrumen kuisioner yang didapat berdasarkan survey, meliputi : data riwayat responden, praktek responden dalam pengisian kartu tilik obat, kuisioner pengetahuan perilaku pengelolaan dagusibu obat.

Tanggal awal jam dan kunjungan	Nama Obat Yang diberikan	Cara Pemberian Obat	Catatan Apoteker
	E Stalox	1x1	
	Urt B Comp	2x1	
	Daugusibu	1x1	
	Pct	1x1	
	Berakstin	3x1	
	Amuladon	1x1	

Gambar 1. Media kartu tilik dagusibu obat kecamatan Johar Baru dan Kecamatan Cempaka Putih.

Responden mendapatkan pertanyaan terkait pengetahuan dan perilaku pengelolaan obat di rumah tangga, sebelumnya peneliti memberikan penjelasan mengenai cara pengisian kartu tilik terhadap kelompok intervensi, yang meliputi : dapatkan, gunakan, simpan dan buang obat. Sedangkan pada kelompok kontrol hanya diberikan media kotak obat tanpa diberi stiker label dagusibu serta media kartu tilik dagusibu obat (Gambar 1). Pengamatan pada kedua kelompok dilakukan selama 2 bulan, kemudian peneliti melakukan kunjungan kembali untuk melakukan evaluasi.

Pengambilan data menggunakan data primer yang terdiri dari kuisioner terbuka dan kuisioner tertutup untuk mengukur tingkat pengetahuan dan sikap responden dan pertanyaan terbuka tentang praktek cara pengisian kartu tilik dagusibu obat. Pada bagian kuisioner pengetahuan dan sikap atau persepsi mengenai pengelolaan dagusibu obat terdapat 15 item pernyataan yang dibagi menjadi 8 item *favorable* dan 7 item *un favorable*. Tanggapan yang diperoleh dari responden yaitu tanggapan bersifat “*forced choice*” dengan memilih “Ya” dan “Tidak”. Proses penilaian skor dilakukan setelah responden mengisi kuisioner yang

diberikan. Nilai pengetahuan dikatakan baik jika jawaban benar $\geq 70\%$ atau dapat menjawab benar ≥ 11 item pernyataan. Pengetahuan kurang baik jika nilainya $< 70\%$ atau dapat menjawab benar < 11 item pernyataan.

Pada pengukuran perilaku dengan cara linkert. Tingkat perilaku dikatakan memberikan nilai positif apabila responden dapat menjawab pertanyaan di kuisioner pada nilai benar $\geq 70\%$ atau menjawab benar dengan jumlah soal ≥ 11 item pernyataan. Adapun sebaliknya, penilaian perilaku negatif dikatakan kurang baik apabila responden menjawab pernyataan pada kuisioner dengan benar $< 70\%$ atau menjawab benar soal pernyataan dengan jumlah soal < 11 item pernyataan.

Pendidikan, jenis kelamin, riwayat pekerjaan terakhir, usia, pengetahuan, sikap, media tilik dan stiker serta perilaku pengelolaan dagusibu obat adalah variabel yang digunakan sebagai data karakteristik demografis responden. Analisa data statistik menggunakan univariat, bivariat dengan uji Chi-square. (Dahlan, 2014).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Karakteristik demografi responden

Penelitian dilakukan di dua wilayah Puskesmas kecamatan yaitu kecamatan Johar Baru dan Kecamatan Cempaka putih. Sampel dalam penelitian ini dilakukan secara menyeluruh sesuai dengan perhitungan slovin sebanyak 116 orang. Yang dibagi menjadi 2 kelompok uji. Kelompok kontrol dilakukan oleh Puskesmas Kecamatan wilayah Cempaka Putih sebanyak 58 sampel yang memiliki kelompok sebanding dengan kelompok intervensi (puskesmas Kecamatan Johar Baru). Responden tidak ada yang menolak selama mengikuti penelitian, sehingga terdapat 100% sesuai dengan inklusi dan eksklusi. Faktor demografis yang mempengaruhi pengelolaan obat di rumah tangga antara lain faktor jenis kelamin, usia dan riwayat bekerja (Huang *et al.*, 2019).

Data karakteristik (Tabel 1) menunjukkan bahwa proporsi distribusi jenis kelamin perempuan sebagian besar lebih banyak daripada laki-laki. Pada penelitian lain juga mengungkapkan terdapat perbedaan antara pengetahuan laki-laki dan perempuan, dimana perempuan lebih mudah berinteraksi dan peduli daripada laki-laki terutama di bidang sosial masyarakat (Puspasari *et al.*, 2018).

Jumlah responden paling banyak berdasarkan usia responden yang mengikuti penelitian tersebut adalah pada usia produktif (18-64 tahun), Penelitian lain yang dilakukan oleh (Savira *et al.*, 2020), mengungkap salah satu faktor yang mungkin mempengaruhi pengetahuan praktik penyimpanan dan pembuangan obat dalam keluarga berdasarkan karakteristik usia responden yang paling banyak pada usia produktif kisaran 41-60 tahun dengan persentase

sebanyak 47,80%. Usia merupakan faktor yang berpengaruh besar dengan cara pandang, pemikiran dan penilaian terhadap pengetahuan seseorang (Notoatmodjo, 2007).

Tabel 1. Karakteristik demografi responden pada penggunaan media kartu tilik dagusibu obat berdasarkan *Home Pharmacy Care*. Keterangan: intervensi yang dilakukan menggunakan alat stimulator (kartu tilik) dan kontrol tanpa diberikan alat stimulator.

Karakteristik Demografi	Intervensi (Johar Baru)		Kontrol (Cempaka Putih)	
	Frekuensi (N=58)	Persentase (%)	Frekuensi (N=58)	Persentase (%)
1. Jenis Kelamin				
Perempuan	49	84,5	51	87,9
Laki-laki	9	15,5	7	12,1
2. Usia				
Produktif (18-64 tahun)	41	70,7	49	84,5
Non produktif (≥ 65 tahun)	17	29,3	9	15,5
3. Jenis Pekerjaan				
Ibu Rumah Tangga	26	44,8	38	65,5
Pensiunan/ Pengangguran	11	19,0	6	10,3
Pegawai swasta	6	10,3	7	12,1
Pegawai Negeri	8	13,8	3	5,2
Wiraswasta/berdagang/buruh	7	12,1	3	5,2
Pelajar Mahasiswa	0	0	1	1,7

Pada karakteristik responden berdasarkan pekerjaan, proporsi jumlah ibu rumah tangga lebih banyak menderita penyakit degeneratif dibandingkan dengan responden kategori lain. Hal ini sangat berhubungan dengan faktor jenis kelamin bukan pada faktor berdasarkan riwayat pekerjaan, berdasarkan penelitian lain, sebagian besar perempuan dengan pekerjaannya mampu menafkahi keluarga dalam beberapa kondisi diluar rumah sehingga memudahkan mereka memiliki riwayat penyakit yang berdampak pada pola yang hidup tidak sehat. Minimnya lahan pekerjaan, rendahnya penghasilan, mahalnya pendidikan anak sangat sering muncul manifestasi timbulnya gangguan emosi dan stress psikososial sehingga sering mengawali terjadinya penyakit degeneratif seperti hipertensi (Kristina *et al.*, 2008)

3.2 Karakteristik perilaku responden berdasarkan dapatkan gunakan simpan serta buang obat (Dagusibu)

Responden di kedua puskesmas berperilaku ketika membeli obat golongan keras tanpa resep dokter di fasilitas kesehatan memiliki proporsi distribusi yang berbeda, responden puskesmas kecamatan Johar Baru memilih cara mendapatkan obat paling banyak dikunjungi adalah apotek (27,59%), sedangkan responden puskesmas kecamatan Cempaka Putih memilih toko obat (31,03%) (Tabel 2). Hal ini diperlukan pengawasan dan penertiban secara kontinyu terhadap distribusi obat keras sehingga masyarakat tidak dapat membeli obat tanpa resep

dokter (Lenk & Duttge, 2014). Memberikan obat golongan keras tanpa peresepan dokter merupakan salahsatu risiko kesalahan obat pada level individu dan masyarakat. Adapun kesalahan yang sering terjadi diantaranya ketidaktepatan diagnosis, kesalahan terapi pilihan, timbulnya efek yang mengakibatkan keparahan, kontraindikasi pada invidu, terdapatnya interaksi obat merugikan, peringatan dan pencegahan, gagal melaporkan pengobatan sendiri, minimalnya frekuensi dan ukuran dosis, penggunaan obat terlalu lama, risiko adiksi, dan penyalahgunaan obat (Rokhman, 2017).

Tabel 2. Karakteristik perilaku responden berdasarkan dapatkan, gunakan, simpan serta buang obat (dagusibu).

Variabel Karakteristik Perilaku	Intervensi (Johar Baru)		Kontrol (Cempaka Putih)	
	Frekuensi (N=58)	Persentase (%)	Frekuensi (N=58)	Persentase (%)
1.Cara Mendapatkan obatgolongan keras tanpa resep dokter fasilitas kesehatan				
a Apotek	16	27,59	12	20,69
b Toko Obat	9	15,52	18	31,03
c Fasilitas Rumah Sakit	13	22,41	9	15,52
d Warung obat (16,22%),	1	1,72	8	13,79
e Klinik dll	14	24,14	7	12,07
f Faskes Puskesmas	5	8,62	4	6,90
2.Cara menggunakan Obat yang diperhatikan antara lain :				
a Aturan pakai dan cara penggunaan BSO	18	31,03	20	34,48
b Batas kadaluarsa/expire date	20	34,48	18	31,03
c Indikasi/Khasiat	8	13,79	7	12,07
d Nama Obat	4	6,90	3	5,17
e Brosur/label kemasan obat	4	6,90	4	6,90
f Efek samping obat	2	3,45	2	3,45
g Kemasan Obat	1	1,72	2	3,45
h Nomor izin edar/registrasi	1	1,72	2	3,45
3.Cara Penyimpanan Obat				
a Kotak penyimpanan obat khusus	33	56,90	24	41,38
b Di lemari es	8	13,79	30	51,72
c Diatas meja /lemari (tanpa kotak obat)	17	29,31	4	6,90
4. Cara Mermbuang Obat				
a Dibuang langsung keadaan utuh	15	25,86	28	48,28
b Dibuang dikloset/kamar mandi	8	13,79	3	5,17
c Menghilangkan label obat	2	3,45	2	3,45
d Dihancurkan dicampur/ditimbun di tanah	33	56,90	25	43,10

Perilaku cara menggunakan obat pada kedua kelompok puskesmas baik kecamatan Johar Baru maupun Cempaka putih memiliki proporsional distribusi yang sebanding, hal ini

menunjukkan bahwa responden ketika ingin menggunakan obat hal yang perlu diperhatikan paling banyak yaitu tentang aturan pakai dan cara menggunakan bentuk sediaan obat tersebut, hal tersebut dapat terlihat antara puskesmas kecamatan Johar Baru (31,03%) dan kecamatan Cempaka Putih (34,48%). Informasi aturan dosis obat merupakan faktor yang dapat mempengaruhi nilai keberhasilan pengobatan. Informasi cara aturan pakai obat dapat dijelaskan kepada responden dengan kondisi melakukan dispensing obat sehingga dapat mempengaruhi pasien dalam menggunakan obat. Pemberian informasi cara pemakaian obat yang kurang jelas merupakan penyebab kesalahan pengobatan yang sering terjadi, dan sebaiknya dapat dihindari supaya tidak menimbulkan masalah dalam terapi pengobatan (Dewi & Farida, 2018).

Proporsi perilaku cara menyimpan obat, kedua puskesmas memiliki persentase yang berbeda, Puskesmas kecamatan Johar Baru memiliki cara penyimpanan obat khusus dikotak obat sebesar 56,90%, sedangkan perilaku menyimpan obat di puskesmas Kecamatan Cempaka putih lebih banyak menyimpan lemari es sebesar 51,72%. sehingga karakteristik perilaku kedua kelompok tersebut memiliki karakteristik tindakan yang berbeda. Seluruh jenis obat dilakukan penyimpanan yang kering, sejuk serta terlindung dari kondisi lembab dan penyinaran sehingga dapat memperlambat penguraian. Obat lebih baik disimpan pada tempat yang tidak mudah dijangkau oleh anak-anak (Flynn *et al.*, 2019). Jenis sediaan obat tertentu dapat tersimpan di kulkas dan pada bungkus kemasan wajib tercantumkan. Bentuk dan jenis obat khusus disimpan pada lemari es adalah insulin. Tidak dianjurkan menyimpan obat sediaan tablet, kapsul, puyer serta sirup ke bagian freezer yang terdapat didalam lemari es. Hal ini justru akan merusak zat aktif obat, begitu pula pada penyimpanan obat dalam mobil pada jangka waktu yang lama (Kheir *et al.*, 2011).

Perilaku cara membuang obat anantara kedua puskesmas memiliki proporsional distribusi yang berbeda (Tabel 2) menunjukkan tindakan perilaku responden puskesmas kecamatan Johar Baru terhadap cara membuang obat paling banyak dilakukan responden dengan cara menghancurkan obat terlebih dahulu kemudian dicampur dengan tanah/ditimbun (56,90%) sedangkan tindakan perilaku membuang sampah berbanding terbalik pada responden dari Puskesmas Kecamatan Cempaka Putih yang menginginkan pembuangan obat dilakukan dalam keadaan utuh sebesar 48,28%. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Aeshah AlAzmi, *et al* (2017) yang mengungkapkan bahwa hampir 73% dari responden membuang obat-obatan sisa, kadaluwarsa, tidak diinginkan, atau tidak digunakan dengan membuangnya di tempat sampah atau sampah. Sementara responden lainnya sekitar 50% percaya bahwa

memberikan obat-obatan sisa kepada keluarga, teman, atau pusat amal adalah metode terbaik dalam hal pembuangan obat (AlAzmi *et al.*, 2017).

Pembuangan obat yang tidak tepat dapat membahayakan kalangan anak-anak, hewan, maupun lingkungan, oleh sebab itu selayaknya diselenggarakan program kesadaran kesehatan masyarakat untuk pembuangan obat-obatan yang kadaluwarsa, obat yang tidak diinginkan, atau tidak terpakai dengan aman dan layak. Jika apoteker memberikan informasi tentang pembuangan obat selama konseling, pasien akan mengembangkan praktik pembuangan yang positif. Selain itu, memberikan informasi pembuangan dengan setiap label obat yang dikeluarkan dapat memainkan peran penting dalam menyelesaikan masalah ini. Metode lain yang disarankan adalah mengatur kampanye kolaboratif, nasional, dan penyadaran memanfaatkan media sosial (Ayele & Mamu, 2018).

3.3 Perbedaan pengetahuan pengelolaan Dagusibu obat antara kelompok kontrol dan intervensi

Pengetahuan merupakan unsur domain yang sangat penting pada tindakan atau perilaku seseorang. Tingkat pendidikan dan pembelajaran salah satu unsur yang utama yang mempengaruhi pengetahuan itu sendiri. Pembelajaran dimaksudkan untuk memberikan nilai pengetahuan khususnya cara pengisian kartu tilik dagusibu yang baik dan benar. Pada Tabel 3 statistik analisa *Chi-Square* terdapat hasil bahwa nilai $p=0,024 < 0,005$, menunjukkan terdapat hubungan signifikan kartu tilik terhadap pengetahuan pengelolaan Dagusibu. Hal ini terlihat nilai *p-value* pada Tabel 3.

Tabel 3. Perbedaan pengetahuan pengelolaan dagusibu antara kelompok kontrol dan intervensi. Keterangan: intervensi yang diberikan kartu tilik dan kontrol tanpa diberikan media kartu tilik.

Variabel Responden		Pengetahuan pembelajaran kartu tilik Dagusibu		p - value	Odd ratio (OR)	95% CI
		Baik	Kurang baik			
Kelompok	Kontrol	19 (37,3%)	39 (60,0%)	0,024	2,526	1,269 – 5,861
	Intervensi	32 (62,70)	26 (40,0%)			

Hasil penelitian didapatkan bahwa kelompok intervensi yang mendapatkan pembelajaran kartu tilik memiliki nilai pengetahuan yang lebih baik (62,70%) jika dibandingkan pada kelompok kontrol (yang tidak mendapatkan pembelajaran pelatihan aplikator kartu tilik dan stiker label) sebanyak 37,30% (Tabel 3). Penelitian tersebut dapat dikatakan sejalan dengan penelitian Nursalam (2010), menyatakan bahwa adanya nilai perbedaan yang signifikan antara cara pengisian kartu KMS terhadap nilai pengetahuan

seseorang dengan nilai $p\text{-value} = 0,01$ (Nursalam *et al.*, 2010). Menurut Notoatmodjo (2007) pengetahuan, sikap perilaku serta tindakan seseorang dapat meningkat apabila dilakukan dengan cara pelatihan. Dalam rangka mencapai tujuan pendidikan, kegiatan pelatihan sangat berhubungan erat terhadap proses belajar mengajar (Notoatmodjo, 2007). Kelompok intervensi merupakan sebagian dari kelompok prolanis belum pernah diberikan edukasi dan alat aplikator media kartu tilik dagusibu obat di rumah, sehingga peneliti sangat tertarik dengan cara memicu responden untuk menggunakan alat aplikator kartu tilik dengan tujuan memberikan perilaku positif dalam pengelolaan dagusibu obat di rumah secara kontinyu, baik dan benar. Nilai OR menjelaskan bahwa responden yang mendapatkan intervensi kartu tilik terhadap pengetahuan pengelolaan dagusibu obat secara benar akan memiliki perilaku yang baik pula sebesar 2,526 kali jika dibandingkan dengan responden pada kelompok normal yang tidak mendapat media kartu tilik.

3.4 Hubungan antara aplikator kartu tilik terhadap perilaku pengelolaan Dagusibu

Jumlah dan persentase responden pada kelompok intervensi memiliki perilaku positif pengelolaan dagusibu obat dengan *home pharmacy care* sebanyak 69,0%. Analisa statistik uji *Chi-Square* mendapatkan nilai $p = 0,000 < 0,050$, hal ini menunjukkan hubungan yang signifikan antara aplikator kartu tilik terhadap perilaku pengelolaan dagusibu pada nilai $p = 0,031$. Nilai OR menunjukkan bahwa responden menggunakan aplikator kartu tilik memiliki pemahaman perilaku yang positif dalam pengelolaan dapatkan, gunakan, simpan serta membuang obat sebesar 2,865 kali jika dibandingkan dengan kelompok yang tanpa menggunakan media kartu tilik. Hal ini terlihat nilai $p\text{-value}$ yang terdapat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hubungan antara aplikator kartu tilik terhadap perilaku pengelolaan dagusibu. Keterangan: intervensi yang diberikan kartu tilik dan sticker label serta kontrol tanpa diberikan media kartu tilik dan sticker label.

Variabel Responden	Perilaku Pengelolaan Dagusibu Obat		p - value	Odd ratio (OR)	95% CI
	Baik	Kurang baik			
Kelompok	Kontrol	9 (31,0%)	0,031	2,865	1,394 – 6,746
	Intervensi	20 (69,0)			
		49 (56,3%) 38 (43,70%)			

Responden yang terdapat pada kelompok kontrol termasuk dalam kategori perilaku negatif dalam pengelolaan obat di rumah tangga. Adapun yang menyebabkan hal tersebut karena responden tidak mendapatkan intervensi kejelasan informasi tentang bagaimana cara mengisi kartu tilik dagusibu obat sehingga nilai kelompok kontrol memiliki signifikansi lebih besar dari standar. Hal ini sejalan dengan ungkapan Notoatmodjo (2012) mengatakan bahwa

tindakan (*over behavior*) belum tentu terwujud secara otomatis pada sikap perilaku seseorang, fasilitas dan faktor dukungan (*support*) merupakan salah satu faktor pendukung atau situasi yang kondusif dari bentuk perbuatan yang nyata (Notoatmodjo, 2012).

Perilaku meliputi persepsi, respon pemimpin, mekanisme dan adopsi. Adopsi bagian dari perilaku yang perlu dijalankan setelah menjalankan fase ke 4. Adopsi merupakan suatu praktek yang sudah berkembang dengan baik. Tindakan merupakan ranah perilaku setelah responden mendapatkan edukasi dan nilai sikap, dimana responden mendapatkan rangsangan objek, kemudian terevaluasi tentang apa yang didapat dan tersikapi (Prihapsara & Velayanti, 2017). Media kartu tilik merupakan alat stimulator yang bertujuan memberikan penilaian yang tentunya perlu pengetahuan dan penyikapan apalagi responden telah diberikan bekal pelatihan sebelumnya dan aktif dalam kegiatan acara yang diisi oleh prolanis terutama pengelolaan dagusibu obat di rumah tangga. Tindakan mengelola obat dagusibu dengan benar akan menciptakan pengetahuan yang baik dan perilaku positif di lingkungan rumah tangga.

4. Kesimpulan

Hasil penelitian penggunaan aplikator kartu tilik dapat memiliki hubungan yang bermakna terhadap pengetahuan (*p-value* 0,024; nilai OR 2,526; 95% CI:1,269-5,861) dan perilaku pengelolaan obat rumah tangga bersifat positif (*p-value* 0,031; nilai OR 2,865; 95% CI:1,394-6,746).

Ucapan Terimakasih

Terima kasih kami sampaikan kepada Badan PPSPDMKes dan Poltekkes Kemenkes Jakarta 2 atas pendanaan penelitian melalui skema penelitian pemula tahun 2020 dan Puskesmas Kecamatan Jakarta Pusat atas kesediaan menjadi fasilitas penelitian.

Deklarasi Konflik Kepentingan

Semua penulis tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Ahmad, A. (2019). Home Pharmacy Care: Solusi Keberhasilan Terapi di Rumah. *Farmasetika.Com (Online)*, 3(5), 70. <https://doi.org/10.24198/farmasetika.v3i5.21634>
- AlAzmi, A., AlHamdan, H., Abualezz, R., Bahadig, F., Abonofal, N., and Osman, M. (2017). Patients' Knowledge and Attitude toward the Disposal of Medications. *Journal of Pharmaceutics*, 2017(2010), 1–9. <https://doi.org/10.1155/2017/8516741>
- American Society of Health-System Pharmacists. (2006). *Best Practices for Hospital and Health-System Pharmacy*. https://Openlibrary.Org/Books/OL8816144M/Best_Practices_for_Hospital_and_Health-System_Pharmacy.
- Ayele, Y., and Mamu, M. (2018). Assessment of knowledge, attitude and practice towards disposal of unused and expired pharmaceuticals among community in Harar city, Eastern Ethiopia. *Journal of Pharmaceutical Policy and Practice*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s40545-018-0155-9>
- Dahlan, M. S. (2014). Statistik Untuk Kedokteran Dan Kesehatan Deskriptif, Bivariat dan

- Multivariat. Dilengkapi Alikasi Menggunakan SPSS. 6th ed. Jatinagor: Alqaprint; 2014. In *Salemba Medika*.
- DepKes RI, D. B. F. K. andK. (2008). *Pedoman Pelayanan Kefarmasian di Rumah (Home Pharmacy Care)*. 1–37. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Dewi, M. A. C., andFarida, Y. (2018). Tingkat Pengetahuan Pasien Rawat Jalan Tentang Penggunaan Antibiotika di Puskesmas Wilayah Karanganyar. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 3(1), 27. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v3i1.15102>
- Ensing, H. T., Vervloet, M., van Dooren, A. A., Bouvy, M. L., andKoster, E. S. (2018). Patient-pharmacist communication during a post-discharge pharmacist home visit. *International Journal of Clinical Pharmacy*. <https://doi.org/10.1007/s11096-018-0639-3>
- Flynn, A. D., Scheuerle, R. L., Galgon, G., Gerrard, S. E., andNetshandama, V. O. (2019). An assessment of infant medication administration and storage practices in selected communities in the Vhembe District of Limpopo Province, South Africa. *Health SA Gesondheid*. <https://doi.org/10.4102/hsag.v24i0.1075>
- Huang, Y., Wang, L., Zhong, C., andHuang, S. (2019). Factors influencing the attention to home storage of medicines in China. *BMC Public Health*, 19(1), 833. <https://doi.org/10.1186/s12889-019-7167-5>
- Kheir, N., El Hajj, M. S., Wilbur, K., Kaissi, R. M. L., andYousif, A. (2011). An exploratory study on medications in Qatar homes. *Drug, Healthcare and Patient Safety*. <https://doi.org/10.2147/dhps.s25372>
- Kristina, S.A., Prabandari, Y.S., andSudjaswadi, R. (2008). Perilaku pengobatan sendiri yang rasional pada masyarakat Kecamatan Depok dan Cangkringan Kabupaten Sleman. *Majalah Farmasi Indonesia*, 19(1), 32–40.
- Lenk, C., andDuttge, G. (2014). Ethical and legal framework and regulation for off-label use: European perspective. In *Therapeutics and Clinical Risk Management*. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S40232>
- MacKeigan, L. D., andNissen, L. M. (2008). Clinical pharmacy services in the home. In *Disease Management and Health Outcomes*. <https://doi.org/10.2165/00115677-200816040-00004>
- Martins, R. R., Farias, A. D., Oliveira, Y. M. da C., Diniz, R. D. S., andOliveira, A. G. (2017). Prevalence and risk factors of inadequate medicine home storage: a community-based study. *Revista de Saúde Pública*, 51, 95. <https://doi.org/10.11606/S1518-8787.2017051000053>
- Notoatmodjo, S. (2007). Promosi Kesehatan dan Ilmu Perilaku. In *Rineka Cipta*.
- Notoatmodjo, Soekidjo. (2012). Promosi Kesehatan dan Perilaku Kesehatan (edisi revisi 2012). In *Jakarta: rineka cipta*.
- Notoatmodjo, S. (2010). Konsep perilaku kesehatan. *Promosi Kesehatan, Teori Dan Aplikasi*.
- Nursalam, Agustina, D., andAlit, N. K. (2010). Training Pengisian Kartu Menuju Sehat (KMS) Merubah Perilaku Kader Posyandu Balita. *Jurnal Ners*.
- Prihapsara, F., andVelayanti, dan R. (2017). Pengaruh Sikap Dan Norma Subyektif Terhadap Niat Beli Personal sebagai Konsumen Potensial Produk Obat Kumur. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 2(1), 6–16.
- Puspasari, H. et. a. (2018). Tingkat Pengetahuan Tentang “DAGUSIBU” Obat Antibiotik Pada Masyarakat Desa Sungai Awan Kiri Kecamatan Muara Pawan Kabupaten Ketapang Tahun 2017. *Medical Sains*, 3(1), 11–18.
- Rambhade, S., Chakarborty, A., Shrivastava, A., Patil, U. K., andRambhade, A. (2012). A survey on polypharmacy and use of inappropriate medications. In *Toxicology International*. <https://doi.org/10.4103/0971-6580.94506>
- Rokhman, M. R., Widiastuti, M., Suwarni, S., Fatmawati, R. F., Munawaroh, N. M., and Pramesti, Y. A. Dispensing Prescription Medicines without a Prescription in

Pharmacy. *JURNAL MANAJEMEN DAN PELAYANAN FARMASI (Journal of Management and Pharmacy Practice)*, 7(3), 115-124.

Savira, M., Ramadhani, F. A., Nadhirah, U., Lailis, S. R., Ramadhan, E. G., Febriani, K., Patamani, M. Y., Savitri, D. R., Awang, M. R., Hapsari, M. W., Rohmah, N. N., Ghifari, A. S., Majid, M. D. A., Duka, F. G., and Nugraheni, G. (2020). PRAKTIK PENYIMPANAN DAN PEMBUANGAN OBAT DALAM KELUARGA. *Jurnal Farmasi Komunitas*, 7(2), 38. <https://doi.org/10.20473/jfk.v7i2.21804>

Wieczorkiewicz, S. M., Kassamali, Z., and Danziger, L. H. (2013). Behind Closed Doors: Medication Storage and Disposal in the Home. *Annals of Pharmacotherapy*. <https://doi.org/10.1345/aph.1r706>



© 2021 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).



Potensi Biji Duwet (*Syzygium cumini* (L.) (Skeels.)) Sebagai Immunomodulator Pendamping Kemoterapi: Sebuah Ulasan

Ahmad Syauqy Tafrihani^{1,2}, Christina Mutiara Putri Gono^{1,2}, Nyssa Natasia^{1,2} dan Muthi Ikawati^{1,3*}

¹Cancer Chemoprevention Research Center, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta 55281, Indonesia.

²Program Studi Sarjana Farmasi, Fakulras Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta 55281, Indonesia.

³Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta 55281, Indonesia.

*email korespondensi: muthi_ikawati@ugm.ac.id

Received 05 November 2020, Accepted 29 June 2021, Published 15 July 2021

Abstrak: Mekanisme pertahanan sel kanker terhadap sistem imun tubuh merupakan ancaman bagi keberhasilan terapi kanker. Agen kemoterapi efektif dalam membantu proses eliminasi sel kanker, namun penggunaannya menginduksi imunosupresi. Ekstrak biji duwet (*Syzygium cumini* (L.) (Skeels.)) dan kandungan senyawanya dilaporkan memiliki berbagai aktivitas immunomodulator dan aktivitas antikanker. Namun, belum ada laporan yang mengulas potensi biji duwet sebagai agen immunomodulator pendamping kemoterapi kanker (ko-kemoterapi). Artikel ini disusun untuk mengulas potensi biji duwet sebagai immunomodulator pendamping kemoterapi. Berbagai literatur dari jurnal internasional dan sumber lain yang dipublikasikan mulai tahun 2005 ditelusuri dari database Pubmed, Scopus, GoogleScholar, dan lainnya. Berdasarkan studi literatur, ekstrak dan senyawa kandungan biji duwet, yaitu asam galat dan mirisetin, dapat memodulasi sistem imun melalui berbagai jalur molekuler. Dapat disimpulkan bahwa biji duwet memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi agen pendamping kemoterapi melalui aktivitas immunomodulatornya. Penelitian lebih lanjut pada model hewan uji kanker yang diberi ekstrak biji duwet dan kombinasinya dengan antikanker diperlukan untuk memvalidasi potensi tersebut.

Kata kunci: kanker; kemoterapi; duwet (*Syzygium cumini*); immunomodulator; kombinasi

Abstract. Potency of Duwet Seed (*Syzygium cumini* (L.) (Skeels.)) as an Immunomodulatory Co-Chemotherapeutic Agent: A Review. The defense mechanism of cancer cells against the body's immune system weakened the effectiveness of cancer therapy. Chemotherapy agents are effective in eradicating cancer cells, but their use induce immunosuppression as one of the side effects. The extract of "duwet" seed (*Syzygium cumini* (L.) (Skeels.)) and its compounds have been reported to show various immunomodulatory and anticancer activities. However, until now there is no report reviewing the potency of duwet seeds as an immunomodulator combination agent for chemotherapy (co-chemotherapy). This article reviewed the potency of "duwet" seeds as an immunomodulatory co-chemotherapy agent. Various literatures from international journals and other sources published in 2005 up to recent were retrieved from Pubmed, Scopus, Google scholar, and other databases. Based on literature studies, the extract and compound contents of "duwet" seeds, i.e. gallic acid and myricetin, modulate the immune system through various molecular pathways. It can be concluded that "duwet" seeds have a potency to be developed as a co-chemotherapy agent via its immunomodulatory activity. Further study using animal model treated with "duwet" seed extract and its combination with anticancer agent is needed to validate this potency.

Keywords: cancer; chemotherapy; duwet (*Syzygium cumini*); immunomodulator; combination

1. Pendahuluan

WHO (2018) menyebutkan bahwa kanker merupakan penyebab kematian terbesar kedua secara global. Kementerian Kesehatan RI (2019) mencatat angka kejadian penyakit kanker di Indonesia sebesar 136,2/100.000 penduduk berada pada urutan ke-8 di Asia Tenggara dan urutan ke-23 di Asia. Prevalensi kanker yang tinggi menunjukkan bahwa kanker adalah salah satu ancaman terbesar kelangsungan hidup manusia. Peneliti berupaya mengatasi hal ini termasuk dengan caramengembangkan agen antikanker baik dari bahan alam (Immanuel *et al.*, 2021) maupun senyawa sintetik (Kesuma *et al.*, 2018). Sel kanker mempunyai sistem pertahanan khusus untuk menghindari sistem imun tubuh yang dinamakan *cancer immunosurveillance* (Galluzzi *et al.*, 2015). Dalam merespon sel kanker, tubuh melakukan respon imun tertentu untuk melawan sel kanker yang memiliki *marker* antigen tertentu. Sehingga dalam hal ini, imunitas tubuh merupakan hal yang penting dalam proses pertahanan untuk melawan sel kanker.

Penggunaan kemoterapi seperti doksorubisin dapat menyebabkan penurunan sistem imun sebagai efek samping dari penggunaannya (Hui-Chou *et al.*, 2012), sehingga semakin memperburuk kondisi imun tubuh. Imunoterapi kanker merupakan salah satu alternatif terapi kanker yang menargetkan sistem imun sebagai perantaranya dan bekerja secara efektif khususnya ketika kanker telah memasuki fase resisten terhadap sistem imun. Pendekatan lain adalah penggunaannya agen imunostimulator sebagai pendamping kemoterapi untuk menangani efek samping imunosupresi dari agen kemoterapi.

Tanaman duwet (*Syzygium cumini* (L.) (Skeels.)) tersebar di berbagai daerah di Indonesia dengan nama yang beragam. Biji duwet seringkali menjadi sampah yang jarang dimanfaatkan, sehingga pengembangan penelitian pada biji duwet menjadi suatu hal yang menarik. Tanaman ini diketahui mengandung berbagai senyawa fenolik, flavonoid, dan terpenoid yang memiliki berbagai aktivitas antikanker (Arun *et al.*, 2011) dan immunomodulator (Wang *et al.*, 2020), sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen imunoterapi kanker atau immunomodulator pendamping kemoterapi. Ulasan naratif ini diharapkan dapat menjadi rujukan untuk penelitian-penelitian selanjutnya, utamanya terkait dengan pengembangan potensi biji duwet sebagai imunoterapi kanker.

2. Proses Cancer Immunoreveillance

Sel kanker memiliki mekanisme khusus untuk menghindari proses eliminasi oleh sel imun. Proses ini melalui tiga tahap, yaitu eliminasi, *equilibrium*, dan *escape* (Galluzzi *et al.*, 2015). Sel limfosit T sitotoksik (selanjutnya disebut sebagai sel Tc) memegang kendali proses

eliminasi sel kanker. Menurut Wagner & Koyasu (2019), proses eradikasi sel kanker dimulai dengan pengenalan antigen pada sel kanker yang berupa *tumor-associated antigen* dan *major histocompatibility complex* (MHC) kelas I yang berikatan dengan *T cell receptor* (TCR) dan ko-reseptor *cluster of differentiation* 8 (CD8) pada sel Tc. Setelah proses pengenalan sel kanker terjadi, sel Tc mengeluarkan sekumpulan protein yang berfungsi melubangi sel kanker yang disebut dengan perforin. Selanjutnya, sel Tc akan mengeluarkan sitokin-sitokin yang akan menghancurkan sel kanker sehingga sel kanker mengalami apoptosis (Wagner & Koyasu, 2019).

Sel kanker yang tidak teratasi pada fase eliminasi kemudian akan memasuki fase *equilibrium* dimana sel tersebut bermutasi dan menjadi lebih resisten terhadap serangan imun dengan mengekspresikan protein yang dapat menonaktifkan sel imun, salah satunya *programmed-death ligand* 1 (PD-L1) yang memiliki mekanisme yang sama dengan *immune checkpoint* pada MHC kelas I dengan sel Tc (Wagner & Koyasu, 2019). Sel kanker yang resisten tersebut kemudian berkembang biak dengan tidak terkontrol dan menginduksi disfungsi imun yang dimediasi oleh faktor immunosupresif, antara lain interleukin-10 (IL-10) dan *transforming growth factor* (TGF)- β , sehingga semakin tidak terdeteksi oleh sel imun dan *escape* dari sistem imun tubuh (Galluzzi *et al.*, 2015).

3. Kemoterapi dan Imunomodulator

Intervensi penyembuhan dari luar tubuh merupakan satu-satunya harapan dalam menghadapi ganasnya sel kanker yang telah memasuki fase *escape*. Berbagai jenis terapi untuk mengatasi sel kanker telah ditemukan mulai dari operasi pengangkatan tumor, kemoterapi, radioterapi, sampai imunoterapi. Dalam perkembangannya, tiap-tiap terapi kanker memiliki efek sampingnya masing-masing.

Kemoterapi merupakan terapi yang umum digunakan dalam menekan progresivitas sel kanker dengan memanfaatkan suatu bahan kimia yang sangat kuat (Gibbs *et al.*, 2016). Selain rute yang beragam, termasuk oral, topikal, dan parenteral (intravena, intraperitoneal, intra arteri, intra pleural intratrakeal, dan intratumoral), obat kemoterapi juga beragam. Beberapa obat kemoterapi yang sering digunakan antara lain adalah doksorubisin, 5-fluorourasil, 6-merkaptopurin, metotreksat, taxanes, vinca alkaloid, dan cisplatin. Obat-obat tersebut bekerja sebagai *alkylating agent* dan menyebabkan kerusakan fungsi DNA, anti metabolik, menghambat pembentukan mikrotubulus, berperan sebagai antibiotik, menghambat topoisomerase, serta menghambat pembelahan sel (Bagnyukova *et al.*, 2010).

Kemoterapi bekerja dengan menghambat pertumbuhan sel yang membelah dengan cepat, salah satu karakteristik dari sel kanker. Namun di sisi lain, kemoterapi dapat

mempengaruhi sel-sel tubuh yang juga membelah dengan cepat, seperti folikel rambut, kuku, *hematopoietic stem cells*, dan sel epitel lambung. Karena itu, kemoterapi sering menimbulkan efek samping seperti mual, *alopecia*, turunnya nafsu makan, penurunan sel darah merah, dan imunosupresi (Hui-Chou *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2005). Untuk mengurangi efek samping yang muncul, pemberian kemoterapi biasanya dikombinasikan dengan berbagai terapi lain seperti terapi adjuvan (misalnya terapi hormon dan imunoterapi) dan terapi neoadjuvan (misalnya operasi dan radiasi) yang tergantung pada jenis kanker dan tingkat keparahannya.

Imunomodulator merupakan salah satu jenis adjuvan kemoterapi. Imunomodulator bekerja dengan cara meningkatkan atau menurunkan respon imun tertentu. Adanya efek samping imunosupresi dari kemoterapi merupakan alasan penggunaan imunomodulator sebagai adjuvan kemoterapi (Galluzzi *et al.*, 2015). Imunomodulator dapat meningkatkan respon imun melalui mekanisme aktivasi sitokin anti-kanker seperti IFN- γ , IL-6, dan sebagainya. Imunomodulator juga dapat bekerja sebagai inhibitor protein pro-kanker seperti TGF- β , *nuclear factor* (NF)- κ B, IL-2, dan lain-lain (Travis & Sheppard, 2014). Selain itu, imunomodulator juga dapat digunakan untuk mengaktivasi sel-sel imun melalui mekanisme aktivasi *toll-like receptor* (TLR) (Chen & Yu, 2016).

4. Morfologi dan Penggunaan Empiris Tanaman Duwet

Tanaman duwet atau jamblang (*Syzygium cumini* (L.) (Skeels.)) merupakan salah satu tumbuhan tropis yang dapat tumbuh hingga ketinggian 30 m. Tanaman ini memiliki daun yang tebal dengan panjang sekitar 6-12 cm, lebar 5-9 cm, berwarna hijau, dengan helaian daun yang berbentuk lonjong, pertulangan menyirip, dan permukaan atas daun yang halus dan mengkilap (Pai *et al.*, 2013). Buah dari tanaman ini berbentuk lonjong dengan panjang 2-3 cm, saat masih muda buah duwet berwarna hijau, setelah masak warnanya akan berubah menjadi ungu kehitaman dengan daging buah berwarna ungu. Setiap buah memiliki satu biji yang berbentuk lonjong dengan panjang 1-2 cm, keras, dan berwarna putih keunguan (Ramya *et al.*, 2012).

United States Department of Agriculture (2015) mengklasifikasikan tanaman duwet dalam divisi Magnoliophyta, kelas Magnoliopsida, orde Myrtales, famili Myrtaceae, genus *Syzygium*, dan spesies *Syzygium cumini* (L.) Skeels. Duwet merupakan tumbuhan asli yang berasal dari Indonesia, India, Sri Lanka, beberapa daerah di Cina, Cambodia, Laos, dan Malaysia (POWO, 2019). Tumbuhan ini juga telah diperkenalkan dan dinaturalisasi di beberapa negara seperti Florida, Hawaii, Venezuela, dan Filipina (POWO, 2019). Di India, tanaman duwet banyak digunakan dalam pengobatan ayurveda untuk pengobatan diabetes

mellitus, selain itu digunakan juga dalam pengobatan tradisional sebagai obat untuk keluhan pencernaan, disentri, wasir, dan kanker (Ayyanar & Subash-Babu, 2012).

5. Profil Fitokimia dan Metode Ekstraksi Biji Duwet

Kandungan fitokimia biji duwet telah banyak dilaporkan (Tabel 1). Kandungan terbesar senyawa pada biji duwet adalah asam galat dengan kadar sebesar 531,8 mg/g sampel (Syama *et al.*, 2017). Asam galat identik dengan buah duwet yang berasa masam dan kelat. Adanya kandungan asam galat yang banyak pada buah duwet ini menyebabkan tingginya kandungan asam galat pada biji duwet pula (Ramya *et al.*, 2012). Selain asam galat, asam elagat juga memiliki kadar yang cukup tinggi dalam biji duwet. Biji duwet juga kaya akan flavonoid seperti mirisetin, kuersetin serta terpenoid seperti bisiklogermakren dan α -pinen yang mana senyawa-senyawa ini yang berperan dalam berbagai aktivitas biji duwet (Banerjee & Narendhirakannan, 2011; Gowri & Vasantha, 2010; Syama *et al.*, 2017). Di samping metode ekstraksi perkolasi dan Soxhletasi dengan pelarut organik, distilasi juga dilakukan untuk mengambil minyak atsirinya.

6. Aktivitas Farmakologi Ekstrak Biji Duwet

Kandungan kimia pada biji duwet ini berkorelasi dengan berbagai aktivitas biologinya (Tabel 2). Aktivitas farmakologi tanaman duwet, secara spesifik ekstrak dari bagian bijinya, khususnya aktivitas antikanker dan imunomodulasi. Ekstrak-ekstrak yang diantaranya mengandung alkaloid dan flavonoid atau minyak atsiri dengan kandungan utama monoterpen tersebut menunjukkan aktivitas anti-oksidan (Banerjee & Narendhirakannan, 2011), sitotoksik dan antiproliferasi (Banerjee & Narendhirakannan, 2011; Ruthurusamy *et al.*, 2015), serta meningkatkan jumlah limfosit dan mengaktifasi makrofag (Mastan *et al.*, 2008; Rodrigues *et al.*, 2015).

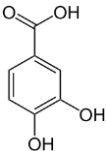
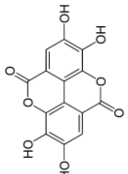
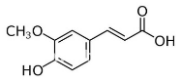
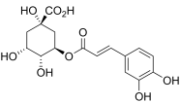
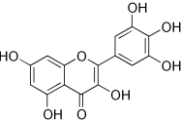
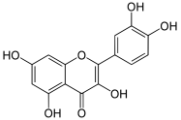
7. Aktivitas Imunomodulator Senyawa Kandungan Biji Duwet

Biji duwet mengandung senyawa-senyawa (Tabel 1) yang telah terbukti memiliki berbagai aktivitas imunomodulator melalui berbagai mekanisme sebagaimana dirangkum pada Tabel 3. Menariknya, senyawa-senyawa pada biji duwet, contohnya kuersetin, tidak hanya memiliki aktivitas imunomodulator, akan tetapi juga sekaligus memiliki aktivitas antikanker dan antioksidan (Li *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2020).

Asam galat terbukti dapat meningkatkan proliferasi limfosit pada mencit yang diinduksi cisplatin sebagaimana tertera pada Tabel 3. Asam galat menginduksi ekspresi IFN- γ yang merupakan salah satu sitokin yang berperan penting dalam modulasi sistem imun. Biji duwet dibandingkan dengan tanaman lain memiliki kandungan asam galat yang tinggi (72 mg/g biji) (Balyan & Sarkar, 2017) dibandingkan anggur 35-65 mg/g, nangka (27,7 mg/g), serta leci

17,9 mg/g biji (Balyan & Sarkar, 2017). Kandungan asam galat yang tinggi inilah yang menyebabkan aktivitas dominan dari biji duwet. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Yadav *et al.* (2012), aktivitas farmakologi asam galat sebagai imunomodulator dapat ditingkatkan dengan cara penambahan farmakofor sebagai agen imunomodulator dengan mekanisme inhibisi residu IFN- α , IL-4, dan IL-6 (protein immunosupresif). Shruthi *et al.* (2018) menyatakan bahwa asam galat dapat menginduksi sistem imun sel normal yang mengalami efek samping obat cisplatin. Hal ini menunjukkan potensi dari biji duwet dengan kandungan tingginya sebagai imunomodulator. Asam galat sendiri akan mengalami absorpsi dalam saluran pencernaan dan mengalami metabolisme menjadi asam 4-O-metilgalat (Yang *et al.*, 2020). Lebih lanjut, konsumsi dari asam galat sendiri dapat meningkatkan respon imun mukosa pada pencernaan sehingga baik untuk pengidap kanker pencernaan seperti kanker kolorektal (Yang *et al.*, 2020).

Tabel 1. Kuantifikasi kandungan senyawa biji duwet (*Syzygium cumini* (L.) (Skeels.)) menggunakan metode HPLC (*high performance liquid chromatography*) dan GC-MS (*gas chromatography-mass spectroscopy*).

Senyawa	Struktur	Pelarut ekstraksi	Kandungan (mg/g sampel kering)	Metode analisis	Referensi
Asam galat		Etil asetat	531,80	HPLC	Syama <i>et al.</i> , 2017
Asam elagat		Metanol 70%	222,18	HPLC	Syama <i>et al.</i> , 2017
Asam ferulat		Etil asetat	21,37	HPLC	Syama <i>et al.</i> , 2017
Asam klorogenat		Metanol 70%	42,46	HPLC	Syama <i>et al.</i> , 2017
Mirisetin		Metanol	100,53	HPLC	Syama <i>et al.</i> , 2017
Kuersetin		Etil Asetat	114,49	HPLC	Syama <i>et al.</i> , 2017
Bisiklogermakren		Etanol	tidak dikuantifikasi	GC-MS	Banerjee & Narendhirakannan, 2011

Tabel 2. Penelitian tentang aktivitas berbagai jenis ekstrak biji duwet (*Syzygium cumini* (L.) (Skeels.)).

Jenis ekstrak	Metode ekstraksi	Golongan senyawa	Desain uji	Aktivitas	Referensi
Ekstrak metanol	Perkolasi	Alkaloid, asam amino, flavonoid, glikosida, fitosterol, saponin, steroid, tanin, triterpen	<i>in vivo</i>	Meningkatkan jumlah sel darah putih dan limfosit	Mastan <i>et al.</i> , 2008
Ekstrak etanol	Soxhletasi	Polifenol, seskuiterpen, <i>n</i> -alkana	<i>in vitro</i>	Anti-radical scavenging	Banerjee & Narendhira kannan, 2011
			<i>in vitro</i>	Sitotoksik pada sel kanker leher Rahim HeLa	
Ekstrak etil asetat	Soxhletasi	Alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, kuinon, tanin, protein	<i>in vitro</i>	Menghambat proliferasi sel kanker payudara MCF-7	Ruthurusa my <i>et al.</i> , 2015
Minyak atsiri	Distilasi	Monoterpen (α -pinene, (<i>Z</i>)- β -ocimene, (<i>E</i>)- β -ocimene)	<i>in vitro</i>	Aktivasi makrofag	Rodrigues <i>et al.</i> , 2015

8. Potensi Pengembangan Biji Duwet sebagai AgenImunomodulator Pendamping Kemoterapi dan Imunoterapi

Imunoterapi kanker merupakan salah satu tren pengembangan terapi kanker akhir-akhir ini. Berbagai strategi imunoterapi dilakukan mulai dari tingkat molekuler sampai terapi adoptif sel T (Liu &Guo, 2018). Jalur molekuler dari imunoterapi yang mungkin dilakukan antara lain melalui jalur TLR/Myd88 (Lee *et al.*, 2020), inhibitor reseptor molekul yang mempengaruhi sel T_{reg} seperti TGF- β (Liu &Guo, 2018), injeksi sitokin imunomodulator seperti IL-2, IFN- γ (Liu &Guo, 2018), atau regulasi reseptor sitokin imunomodulator (Yadav *et al.*, 2012).

Aktivitas imunomodulator dari ekstrak dan senyawa pada biji duwet yang menjadi dasar bahwa biji duwet memiliki potensi yang besar untuk diadopsi menjadi agen imunoterapi untuk kanker (Tabel 1 dan 3). Penelitian Yadav *et al.* (2012) menunjukkan bahwa asam galat dapat diderivatisasi dengan penambahan gugus naftofenon sebagai farmakofor residu sisi aktif IL-4, IL-6, dan IFN- α 2 yang merupakan mediasi imunomodulator. Kandungan asam galat yang tinggi pada biji duwet (Tabel 2) menunjukkan salah satu potensi besar yang

menunjukkan bahwa biji duwet dapat diarahkan menjadi agen imunoterapi kanker melalui jalur penelitian yang telah disebutkan oleh Yadav *et al.* (2012). Selain asam galat, mirisetin pada biji duwet dapat menghambat reseptor TGF- β dengan afinitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol ligan inhibitor TGF- β (Singhet *et al.*, 2017).

Tabel 3. Aktivitas imunomodulator senyawa yang terkandung dalam biji duwet (*Syzygium cumini* (L.) (Skeels.)). IFN- γ : interferon- γ ; ROS: *reactive oxygen species*; TGF- β : *transforming growth factor*- β ; IL-8: interleukin-8.

Senyawa	Aktivitas	Desain uji	Mekanisme Molekuler	Referensi
Asam galat	Meningkatkan proliferasi limfosit pada mencit yang diinduksi cisplatin	<i>in vivo</i>	Meningkatkan ekspresi IFN- γ	Shruthi <i>et al.</i> , 2018
Asam ferulat	Antioksidan	<i>in vitro</i>	Menurunkan ROS dan menghambat lipid peroksidase	Kim <i>et al.</i> , 2011
Asam klorogenat	Imunostimulan	<i>in vivo</i>	Meningkatkan produksi IFN- γ	Huang <i>et al.</i> , 2018
Mirisetin	Meningkatkan proliferasi sel CD4+CD25+	<i>in vivo</i>	Menurunkan ekspresi TGF- β	Singh <i>et al.</i> , 2017
	Imunostimulan	<i>in silico</i>	Menghambat reseptor TGF- β	Singh <i>et al.</i> , 2017
Kuersetin	Meningkatkan jumlah IgM	<i>in vivo</i>	menurunkan ekspresi TGF- β dan IL-8	Wang <i>et al.</i> , 2020
	Sitotoksik	<i>in vitro</i>	Pada konsentrasi tinggi menaikkan sitotoksitas cisplatin terhadap sel C13*	Li <i>et al.</i> , 2014

Paparan terkait aktivitas sitotoksik dan imunomodulator ekstrak biji duwet (Tabel 1) mengarahkan pada kesimpulan bahwa ekstrak biji duwet memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi agen pendamping kemoterapi. Potensi biji duwet sebagai agen pendamping kemoterapi dan prediksi mekanismenya diilustrasikan dalam Gambar 1. Pemberian kemoterapi mengeradikasi sebagian sel-sel kanker. Penambahan ekstrak biji duwet akan meningkatkan efektivitas terapi melalui efek sitotoksik dan menghambat pensinyalan TGF- β pada sel kanker maupun efek imunomodulator dengan memodulasi sitokin-sitokin pada sel-sel sistem imun, sehingga didapatkan kondisi homeostasis.

Ekstrak biji duwet juga berpotensi untuk dikembangkan dalam bentuk sediaan farmasetika ataupun nutrasetika sehingga meningkatkan nilai akseptibilitas dan nilai jual dari ekstrak biji duwet. Biji duwet dapat pula dikembangkan menjadi komoditas sediaan herbal dengan klaim aktivitasnya sebagai agen *immune booster/immunostimulant* sehingga pasarnya semakin luas. Pengembangan potensi biji duwet sebagai agen imunoterapi memiliki tantangan, yaitu perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk memvalidasi potensi biji duwet tersebut melalui uji *in vivo* pada hewan uji model kanker yang diberi ekstrak biji duwet dan yang dikombinasikan dengan agen antikanker.



Gambar 1. Potensi aktivitas ekstrak biji duwet sebagai pendamping kemoterapi dan prediksi mekanismenya. Sel berwarna abu-abu merepresentasikan sel sehat, sel merah muda adalah sel kanker, sel hijau dan ungu merepresentasikan sel-sel sistem imun, sedangkan titik-titik abu-abu dan merah adalah sitokin yang dihasilkan sel sehat dan sel-sel sistem imun.

9. Kesimpulan

Biji duwet memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi agen pendamping kemoterapi melalui aktivitas imunomodulatornya. Penelitian lebih lanjut pada model hewan uji kanker yang diberi ekstrak biji duwet dan kombinasinya dengan antikanker diperlukan untuk memvalidasi potensi tersebut.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pembelajaran dan Kemahasiswaan Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia yang telah mendanai penulisan ulasan ini melalui Program Kreativitas Mahasiswa-Penelitian Eksakta (PKM-PE) tahun 2020.

Deklarasi Konflik Kepentingan

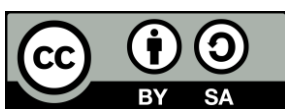
Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

Daftar Pustaka

- Arun, R., Prakash, M.V.D., Abraham, S.K. dan Premkumar, K. (2011). Role of *Syzygium cumini* seed extract in the chemoprevention of in vivo genomic damage and oxidative stress. *Journal of Ethnopharmacology*, 134(2):pp.329-333. 10.1016/j.jep.2010.12.014.
- Ayyanar, M. dan Subash-Babu, P. (2012). *Syzygium cumini* (L.) Skeels: a review of its phytochemical constituents and traditional uses. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3): pp.240-246. 10.1016/S2221-1691(12)60050-1.
- Bagnyukova, T.V., Serebriiskii, I.G., Zhou, Y., Hopper-Borge, E.A., Golemis, E.A., dan Astsaturov, I. (2010). Chemotherapy and signaling: How can targeted therapies supercharge cytotoxic agents? *Cancer Biology and Therapy*, 10(9):pp.839-853. 10.4161/cbt.10.9.13738
- Balyan, U. dan Sarkar, B. (2017). Aqueous extraction kinetics of phenolic compounds from jamun (*Syzygium cumini* L.) seeds. *International Journal of Food Properties*, 20(2): pp.372-389. 10.1080/10942912.2016.1163266.
- Banerjee, J. dan Narendhirakannan, R.T. (2011). Phytochemical analyses, antibacterial, in vitro antioxidant and cytotoxic activities of ethanolic extract of *Syzygium cumini* (L.) seed extract. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(7): pp.1799-1806. 10.13040/IJPSR.0975-8232.2(7).1799-06.
- Chen, L. dan Yu, J. (2016). Modulation of Toll-like receptor signaling in innate immunity by natural products. *International Immunopharmacology*, 37: pp.65-70. 10.1016/j.intimp.2016.02.005.
- Galluzzi, L., Buqué, A., Kepp, O., Zitvogel, L. dan Kroemer, G. (2015). Immunological effects of conventional chemotherapy and targeted anticancer agents. *Cancer Cell*, 28(6): pp.690-714. 10.1016/j.ccell.2015.10.012.
- Gibbs, L., Bowen, R., Makris, A., UKBCM, dan Beresford, M. (2016). Preferences for chemotherapy side-effect profiles in breast cancer – the view of oncologists. *Clinical Oncology*, 28(5): E3-E4. 10.1016/j.clon.2016.01.022.
- Gowri, S.S. dan Vasantha, K. (2010). Phytochemical screening and antibacterial activity of *Syzygium cumini* (L.) (Myrtaceae) leaves extracts. *International Journal of PharmTech Research*, 2(2): pp.1569-1573.
- Huang, H., Pan, L., Pan, S. dan Song, M. (2018). The feasibility of using primary shrimp hemocyte culture to screen herbal immunostimulants. *Aquaculture International*, 26: pp.799-811. 10.1007/s10499-018-0238-2.
- Hui-Chou, H.G., Olenczak, J.B., Drachenberg, C.B., Shea, S.M. dan Rodriguez, E.D. (2012). Short-term application of doxorubicin chemotherapy immunosuppressive side effects for composite tissue allotransplantation. *Annals of Plastic Surgery*, 68(2): pp.215-221. 10.1097/SAP.0b013e3182467f7b.
- Imanuel, L.K., Sunarni, T., dan Herdwiani, W. (2021). Aktivitas sitotoksik dan ekspresi protein p53 dan bcl-2 ekstrak dan fraksi daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) terhadap sel kanker T47D. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 6(1): pp.74-81. 10.20961/jpscr.v6i1.39540.
- Kementerian Kesehatan RI. (2019). Penyakit kanker di Indonesia berada pada urutan 8 di Asia Tenggara dan 23 di Asia. <http://p2p.kemkes.go.id/penyakit-kanker-di-indonesia-berada-pada-urutan-8-di-asia-tenggara-dan-urutan-23-di-asia/> [20 September 2020].
- Kesuma, D., Siswandono, Purwanto, B.T., dan Hardjono, S. (2018). Uji *in silico* aktivitas sitotoksik dan toksisitas senyawa turunan N-(benzoi)-N'-feniltiourea sebagai calon obat antikanker. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 3(1): pp.11-11. 10.20961/jpscr.v3i1.16266.
- Kim, H.-Y., Park, J., Lee, K.-H., Lee, D.-U., Kwak, J.-H., Kim, Y.S. dan Lee, S.-M. (2011). Ferulic acid protects against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. *Toxicology*, 282(3): pp.104-111. 10.1016/j.tox.2011.01.017.

- Lee, S.N., Jin, S.M., Shin, H.S. dan Lim, Y.T. (2020). Chemical strategies to enhance the therapeutic efficacy of Toll-like receptor agonist based cancer immunotherapy. *Accounts of Chemical Research*, 53(10): pp.2081-2093. 10.1021/acs.accounts.0c00337.
- Li, N., Sun, C., Zhou, B., Xing, H., Ma, D., Chen, G. dan Weng, D. (2014). Low concentration of quercetin antagonizes the cytotoxic effects of anti-neoplastic drugs in ovarian cancer. *PLoS ONE*, 9(7): e100314. 10.1371/journal.pone.0100314.
- Liu, M. dan Guo, F. (2018). Recent updates on cancer immunotherapy. *Precision Clinical Medicine*, 1(2): pp.65-74. 10.1093/pcmedi/pby011.
- Mastan, S.K., Saraseeruha, A., Gourishankar, V., Chaitanya, G., Raghunandan, N., Reddy, G.A. dan Kumar, K.E. (2008). Immunomodulatory activity of methanolic extract of *Syzygium cumini* seeds. *Pharmacologyonline*. 3: pp.895-903.
- Pai, R.J., Valder, B., Palatty, P.L., Shivashankara, A.R. dan Baliga, M.S. (2013). Gastrointestinal protective effects of *Eugenia jambolana* Lam. (blackplum) and its phytochemicals, 369-382, in: Watson, R.R. and Preedy, V.R. (Eds.), *Bioactive Food as Dietary Interventions for Liver and Gastrointestinal Disease*. San Diego: Academic Press. 10.1016/B978-0-12-397154-8.00043-9.
- Plants of the World Online (POWO). (2019). *Syzygium cumini* (L.) Skeels. <http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:601603-1> [20 September 2020].
- Ramya, S., Neethirajan, K. dan Jayakumararaj, R. (2012). Profile of bioactive compounds in *Syzygium cumini* – a review. *Journal of Pharmacy Research*, 5(8): pp.4548-4553.
- Rodrigues, K.A. da F., Amorim, L.V., Dias, C.N., Moraes, D.F.C., Carneiro, S.M.P., Carvalho, F.A. de A. (2015). *Syzygium cumini* (L.) Skeels essential oil and its major constituent α -pinene exhibit anti-*Leishmania* activity through immunomodulation *in vitro*. *Journal of Ethnopharmacology*, 160: pp.32-40. 10.1016/j.jep.2014.11.024.
- Ruthurusamy, S.K., Dheeba, B., Hameed, S.S., dan Palanisamy, S. (2015). Anti-cancer and anti-oxidative potential of *Syzygium cumini* against breast cancer cell lines. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(10): pp. 449-460.
- Shruthi, S., Vijayalaxmi, K.K. dan Shenoy, K.B. (2018). Immunomodulatory effects of gallic acid against cyclophosphamide- and cisplatin-induced immunosuppression in Swiss Albino mice. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80(1): pp.150-160. 10.4172/pharmaceutical-sciences.1000340.
- Singh, P., Bast, F. dan Singh, R.S. (2017). Natural compounds targeting transforming growth factor- β : *in silico* and *in vitro* study. *Electronic Journal of Biology*, 13(1): pp.6-13.
- Syama, H.P., Arya, A.D., Dhanya, R., Nisha, P., Sundaresan, A., Jacob, E. dan Jayamurthy, P. (2017). Quantification of phenolics in *Syzygium cumini* seed and their modulatory role on tertiary butyl-hydrogen peroxide-induced oxidative stress in H9c2 cell lines and key enzymes in cardioprotection. *Journal of Food Science and Technology*, 54: pp.2115-2125. 10.1007/s13197-017-2651-3.
- Travis, M.A. dan Sheppard, D. (2014). TGF- β activation and function in immunity. *Annual Review of Immunology*, 32: pp.51-82. 10.1146/annurev-immunol-032713-120257.
- United States Departement of Agriculture. (2015). Natural Resources Conservation Service: Plant Profile Classification *Syzygium cumini*. <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=SYCU> [20 September 2020].
- Wagner, M. dan Koyasu, S. (2019). Cancer immunoediting by innate lymphoid cells. *Trends in Immunology*, 40(5): pp. 415-430. 10.1016/j.it.2019.03.004.
- World Health Organization (WHO). (2018). Cancer. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer#:~:text=Cancer%20is%20the%20second%20leading,%20and%20middle-income%20countries> [20 September 2020].
- Wang, J., Zhang, C., Zhang, J., Xie, J., Yang, L., Xing, Y. dan Li, Z. (2020). The effects of quercetin on immunity, antioxidant indices, and disease resistance in zebrafish (*Danio*

- rerio). *Fish Physiology and Biochemistry*, 46: pp.759-770. 10.1007/s10695-019-00750-2.
- Yadav, D.K., Khan, F. dan Negi, A.S. (2012). Pharmacophore modeling, molecular docking, QSAR, and in silico ADMET studies of gallic acid derivatives for immunomodulatory activity. *Journal of Molecular Modeling*, 18: pp.2513-2525. 10.1007/s00894-011-1265-3.
- Yang, K., Zhang, L., Liao, P., Xiao, Z., Zhang, F., Sindaye, D., Xin, Z., Tan, C., Deng, J., Yin, Y. dan Deng, B. (2020). Impact of gallic acid on gut health: focus on the gut microbiome, immune response, and mechanisms of action. *Frontiers in Immunology*, 11: 580208. 10.3389/fimmu.2020.580208.
- Zhang, X.-Y., Li, W.-G., Wu, Y.-J. dan Gao, M.-T. (2005). Amelioration of doxorubicin-induced myocardial oxidative stress and immunosuppression by grape seed proanthocyanidins in tumour-bearing mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57(8): pp.1043-1051. 10.1211/0022357056523.



© 2021 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).



Evaluasi Terapi Antihipertensi Pada Pasien Preeklampsia Berat di Instalasi Rawat Inap RSUD Dr. Moewardi Periode Januari - Juni Tahun 2017

Wisnu Kundarto* dan Riskafiya Ni'matul Faizah

Program Studi D3 Farmasi, Sekolah Vokasi, Universitas Sebelas Maret, Jl. Kolonel Sutarto No. 150K, Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia, 57126

*email korespondensi : wisnukundarto@staff.uns.ac.id

Received 29 January 2020, Accepted 7 May 2021, Published 15 July 2021

Abstrak: Preeklampsia merupakan salah satu penyebab utama kematian ibu di Indonesia. Preeklampsia berat adalah sindrom klinis pada masa kehamilan (setelah kehamilan 20 minggu) yang ditandai dengan peningkatan tekanan darah ($\geq 160/110$ mmHg) dan proteinuria. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas penggunaan obat antihipertensi pada pasien preeklampsia berat di instalasi rawat inap RSUD Dr. Moewardi periode Januari - Juni 2017 dilihat dari ketepatan obat, dosis, dan target tekanan darah dibandingkan dengan *guideline The American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG) tahun 2013. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif non eksperimental. Pengambilan data dilakukan secara retrospektif dengan teknik *consecutive sampling* dengan mencatat rekam medis yang memenuhi kriteria. Efektivitas penggunaan obat antihipertensi dinilai dengan melihat ketepatan obat, dosis, dan target tekanan darah berdasarkan ACOG tahun 2013. Terdapat 76 rekam medis yang memenuhi kriteria. Karakteristik pasien didominasi berusia 20-35 tahun (73,7%), multigravida (73,7%), serta usia kehamilan pada trimester III (96,1%). Hasil evaluasi menunjukkan penggunaan obat antihipertensi yang diberikan adalah nifedipin (65,79%), metildopa (23,68%), dan kombinasi keduanya (10,53%). Kesimpulan penelitian ini adalah penggunaan obat antihipertensi sudah efektif ditinjau dari tepat obat, tepat dosis, dan sesuai target tekanan darah berdasarkan ACOG tahun 2013.

Kata kunci: preeklampsia berat; tepat obat; tepat dosis

Abstract: The evaluation of antihypertension therapy in patients with severe preeclampsia at inpatient unit moewardi general hospital during january - june 2017 period. Preeclampsia is one of the main cause of maternal mortality in Indonesia. Severe preeclampsia is a clinical syndrome during pregnancy (after 20 weeks' gestation) characterized by elevated blood pressure ($\geq 160/110$ mmHg) and proteinuria. The aim of this study was to evaluate the effectiveness of antihypertension drugs in patient with severe preeclampsia at inpatient unit Moewardi General Hospital during January - June 2017 period based on drug, dosage, and blood pressure target compared with the The American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) 2013 guideline. This research was a descriptive non-experimental design. Data from medical record samples were collected retrospectively with consecutive sampling. Assessment of antihypertension drugs effectivity based on drug, dosage and blood pressure target appropriateness compared with ACOG 2013. Only 76 medical records were meet the criteria. Mostly subject were dominated by age 20 - 35 years (73,7%), multigravida (73,7%), and pregnancy at third semester (96,1%). The result showed that antihypertension drugs were nifedipine (65,79%), methyl dopa (23,68%), and combination of them (10,53%). The conclusion were all antihypertension drugs were effective based on drug, dosage and blood pressure target appropriateness compared with ACOG 2013 guidelines

Keywords: severe preeclampsia; drug appropriateness; dosage appropriateness

1. Pendahuluan

Kematian ibu di Indonesia didominasi oleh tiga penyebab utama kematian yaitu perdarahan, hipertensi dalam kehamilan dan infeksi. Hipertensi pada kehamilan seperti hipertensi gestasional maupun preeklampsia terjadi pada 10 persen kehamilan serta menjadi penyebab utama kejadian morbiditas dan mortalitas ibu dan janin (Sonnaville *et al.*, 2020). Data Profil Kesehatan Indonesia pada tahun 2019 memperlihatkan sebanyak 1280 kasus perdarahan, 1066 kasus hipertensi dalam kehamilan, dan 207 kasus infeksi menjadi penyebab kematian ibu (Kemenkes, 2020).

Penelitian terakhir tentang evaluasi obat antihipertensi pada pasien preeklampsia berat sudah pernah dilakukan di Indonesia, dengan hasil bervariasi. Penelitian Qoyimah (2016) di Rumah Sakit PKU Muhammadiyah Bantul menunjukkan bahwa antihipertensi yang digunakan pada total 17 pasien hanya nifedipin. Evaluasi penggunaan antihipertensi pada penelitian tersebut menunjukkan penggunaan nifedipin sudah tepat indikasi, tepat pasien, tepat obat, dan tepat dosis dibandingkan dengan JNC VII (2003). Penelitian Amri & Mutmainah (2015) melaporkan dari total 76 pasien preeklampsia berat di RSUD Dr Moewardi Surakarta, sebanyak 49,19% tepat indikasi, ketepatan obat sebanyak 81,35%, ketepatan dosis sebanyak 86,44%, dan ketepatan pasien sebanyak 93,22%. Penelitian ini menggunakan pembandingan Panduan Nasional dan Pelayanan Kesehatan Preeklampsia (PNPK) tahun 2016 yang dikeluarkan oleh Perkumpulan Obstetri dan Ginekologi Indonesia. Hadad *et al.*, (2019) melaporkan pemilihan obat pada pasien preeklampsia berat di Instalasi Rawat Inap RSUD dr. Soedarso Pontianak tahun 2018 yaitu sebesar 40,32% penggunaan kombinasi nifedipin + metildopa, diikuti oleh nifedipin tunggal (14,52%), kombinasi nifedipin + metildopa + furosemid (9,68%) serta metildopa tunggal (8,06%) dari total 62 pasien. Penelitian tersebut juga menemukan ketidaktepatan pemilihan obat sebesar 11,29%. Penelitian tersebut menggunakan pembandingan Panduan Nasional dan Pelayanan Kedokteran Preeklampsia tahun 2016 dan *Queensland Clinical Guideline* tahun 2015.

Penelitian Amri & Mutmainah (2015) menunjukkan masih ditemukannya ketidaktepatan obat dan dosis. Pemilihan obat – obatan selama kehamilan harus mempertimbangkan antara rasio manfaat yang lebih besar daripada risiko bagi ibu maupun janin untuk menghasilkan terapi yang aman dan rasional. Pemberian terapi antihipertensi yang tidak tepat dapat saja menyebabkan risiko hipotensi ataupun potensi efek samping pada janin (Odigboegwu *et al.*, 2018). Hal inilah yang melatar belakangi pentingnya penelitian evaluasi efektivitas penggunaan obat antihipertensi pada pasien preeklampsia berat di instalasi rawat inap RSUD Dr. Moewardi periode Januari - Juni 2017 ini dilakukan. Efektivitas penggunaan obat dilihat dari ketepatan obat, dosis, dan target tekanan darah yang dicapai yaitu <160/100 mmHg. Ketepatan obat dan

dosis dibandingkan dengan *guideline The American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG) tahun 2013. JNC VII (2003) hanya menyebutkan obat-obat hipertensi yang aman untuk janin, namun belum memuat target tekanan darah pasien hipertensi dengan kehamilan. ACOG tahun 2013 dan PNPk tahun 2016 menyatakan target penurunan tekanan darah pasien preeklampsia berat tekanan darah sistolik sebesar <160 mmHg dan diastolik sebesar <110 mmHg. Peneliti menggunakan *guideline* ACOG ini dikarenakan penelitian Amri & Mutmainah (2015) telah menggunakan PNPk tahun 2016. Secara umum obat-obat antihipertensi yang digunakan dan target tekanan darah kedua *guideline* tersebut sama.

2. Bahan dan Metode

Penelitian ini telah mendapatkan izin kelaikan etik dengan nomor 1.212/XII/HREC/2017 dari Komisi Etik RSUD Dr. Moewardi. Penelitian ini merupakan penelitian non eksperimental dengan pendekatan deskriptif dan pengumpulan data secara retrospektif dengan menggunakan data rekam medik. Alat yang diperlukan pada penelitian ini adalah lembar pengumpul data, serta *guideline The American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG) tahun 2013. Peneliti menggunakan *guideline* ACOG tahun 2013 meskipun PNPk tahun 2016 umum digunakan pada penelitian di Indonesia. Terkait obat-obat antihipertensi pasien preeklampsia berat dan target tekanan darah, *guideline* ACOG tahun 2013 dan PNPk tahun 2016 memiliki makna yang sama. Bahan yang diperlukan berupa catatan rekam medis pasien preeklampsia berat yang dirawat di instalasi rawat inap RSUD Dr. Moewardi Periode Januari-Juni Tahun 2017.

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah semua pasien preeklampsia berat di instalasi rawat inap RSUD Dr. Moewardi periode Januari – Juni Tahun 2017. Sampel diambil dengan teknik *purposive sampling*. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah pasien mempunyai tekanan darah sebelum terapi yaitu $\geq 160/100$ mmHg, usia kehamilan ≥ 20 minggu, mengalami proteinuria dengan hasil dipstik $> +1$ atau > 300 mg/24 jam, mendapatkan terapi obat antihipertensi, mempunyai data rekam medis lengkap meliputi usia pasien, usia kandungan, status gravida, obat dan dosis antihipertensi, serta tekanan darah sebelum dan sesudah terapi.

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk table untuk melihat karakteristik pasien preeklampsia berat dan evaluasi efektivitas penggunaan obat antihipertensi. Karakteristik pasien pada penelitian ini meliputi usia pasien, usia kandungan, dan status gravida. Evaluasi efektivitas penggunaan obat antihipertensi meliputi data ketepatan obat, dosis dan target tekanan darah pasien. Pengobatan antihipertensi dikatakan efektif jika tepat obat, tepat dosis, dan target *outcome* tekanan darah pasien $<160/100$ mmHg saat pasien diperbolehkan keluar rumah sakit.

3. Hasil dan Pembahasan

Populasi pada penelitian ini berjumlah 101 pasien dan yang memenuhi kriteria hanya diperoleh 76 pasien preeklampsia berat dengan jumlah frekuensi pemberian obat antihipertensi sebanyak 153 kasus. Pasien yang di eksklusi yaitu sebanyak 28 pasien tidak memiliki catatan rekam medis yang lengkap, dan 7 pasien tidak mendapatkan pengobatan antihipertensi.

3.1 Karakteristik pasien

3.1.1 Distribusi pasien berdasarkan usia.

Usia ibu hamil merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi terjadinya kejadian preeklampsia berat. Ibu hamil dengan usia > 35 tahun beresiko terjadi preeklampsia karena terjadi perubahan akibat faktor penuaan. Ibu hamil usia < 20 tahun rahim belum siap dalam menghadapi kehamilan, dan secara psikologis mental belum siap sehingga mengakibatkan hipertensi (Kurniasari & Arifandini, 2015).

Pembagian usia pasien pada penelitian ini berdasarkan dengan usia resiko melahirkan yaitu <20 tahun dan >35 tahun serta usia aman untuk melahirkan yaitu 20-35 tahun (Septiasih, 2018). Distribusi pasien berdasarkan usia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Distribusi berdasarkan usia pasien preeklampsia berat (N total=76). Persentase = jumlah pasien tiap setiap kelompok / jumlah seluruh pasien x 100%.

Usia (Tahun)	Jumlah Pasien	Persentase (%)
< 20	1	1,3
20-35	56	73,7
>35	19	25,0
Total	76	100

Pasien dengan kelompok usia 20-35 tahun memiliki persentase paling tinggi yaitu sebesar 73,7% sebanyak 56 pasien (Tabel 1). Usia berkaitan dengan peningkatan dan penurunan fungsi tubuh. Usia kehamilan yang baik berada pada rentang 20-35 tahun (Nursal *et al.*, 2015). Penelitian Qoyimah tahun 2016 menunjukkan hasil pasien preeklampsia berat sering ditemui dalam rentang umur 20-35 tahun yaitu 70,6% dari 17 kasus (Qoyimah, 2016). Usia seringkali dikaitkan dengan risiko terjadinya hipertensi, penelitian Nurmainah & Alfian (2021) menunjukkan bahwa perbedaan usai berhubungan dengan perbedaan tekanan darah. Hasil tersebut bias saja terjadi diduga karena banyak faktor lain yang dapat berpengaruh seperti pekerjaan. Pekerjaan dikaitkan dengan aktifitas fisik dan stress. Stress dapat memicu tubuh untuk memproduksi hormon kortisol. Kortisol berefek dapat meningkatkan curah jantung dan tekanan darah (Grum *et al.*, 2017). Namun pada penelitian ini, data rekam medis seluruh pasien tidak mencantumkan jenis pekerjaan sehingga peneliti tidak dapat mengetahui jenis pekerjaan pasien.

3.1.2 Distribusi pasien berdasarkan status gravida.

Status gravida/kehamilan juga termasuk faktor resiko yang dapat menyebabkan terjadinya preeklampsia berat. Distribusi pasien preeklampsia berat di instalasi rawat inap RSUD Dr. Moewardi berdasarkan status gravida dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Distribusi berdasarkan status gravida (N total=76). Persentase = jumlah jumlah pasien tiap setiap kelompok/jumlah seluruh pasien x 100%.

Status Gravida	Jumlah Pasien	Persentase (%)
Primigravida	20	26,3
Multigravida	56	73,7
Total	76	100

Persentase tertinggi yaitu pada kelompok multigravida (status kehamilan ibu >1 kali) sebanyak 73,7 % (Tabel 2). Hasil tersebut berbeda dengan penelitian Qoyimah tahun 2016 di RS PKU Muhammadiyah Bantul yang menunjukkan bahwa kelompok primigravida memiliki persentase tertinggi terjadinya preeklampsia berat yaitu sebesar 52,9% dari 17 pasien. Kejadian preeklampsia berat lebih sering terjadi pada kehamilan pertama. Primigravida rentan mengalami stres sehingga dapat memicu tubuh untuk memproduksi hormon kortisol. Kortisol berefek dapat meningkatkan curah jantung dan tekanan darah (Grum *et al.*, 2017). Respon imun juga dapat menjadi penyebab kejadian preeklampsia pada primigravida akibat reaksi fetoplasenta dengan jaringan ibu (Tessema *et al.*, 2015).

Hasil penelitian ini status gravida yang lebih banyak mengalami preeklampsia berat adalah kelompok multigravida. Hal tersebut diduga dapat saja terjadi jika faktor lain seperti riwayat hipertensi pasien dan riwayat adanya penyakit preeklampsia berat pada keluarga pasien sehingga jumlah pasien kelompok tersebut memiliki persentase yang lebih besar dibandingkan kelompok primigravida.

Faktor riwayat hipertensi pasien sebelum kehamilan dan riwayat preeklampsia berat pada keluarga pasien berpengaruh dengan tingkat kejadian preeklampsia berat. Hal ini karena seorang ibu yang mempunyai riwayat hipertensi berisiko lebih besar mengalami preeklampsia (Cunningham *et al.*, 2013). Selain itu riwayat keluarga yang pernah mengalami preeklampsia akan meningkatkan resiko sebesar 2,6 kali lipat (Grum *et al.*, 2017). Namun kedua faktor ini tidak dapat diketahui secara pasti oleh peneliti karena dalam data rekam medis pasien tersebut tidak dicantumkan.

3.1.3 Distribusi pasien berdasarkan usia kehamilan.

Kejadian preeklampsia sering terjadi pada usia kehamilan diatas 20 minggu karena perubahan plasenta normal. Hal ini sesuai dengan teori iskemia implantasi plasenta bahwa kejadian preeklampsia semakin meningkat seiring tuanya kehamilan tepatnya diatas usia kehamilan 20 minggu. Terapi definitif pada preeklampsia adalah dengan melahirkan bayi

(Sidani & Siddik-Sayyid, 2011). Melahirkan bayi dapat mengurangi resiko memburuknya penyakit maupun terjadinya komplikasi (Osungbade & Ige, 2011). Distribusi pasien berdasarkan usia kehamilan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Distribusi berdasarkan usia kehamilan (N total=76). Persentase = jumlah pasien tiap setiap kelompok / jumlah seluruh pasien x 100%.

Usia Kehamilan	Jumlah Pasien	Persentase (%)
Trimester I	-	-
Trimester II	3	3,9
Trimester III	73	96,1
Total	76	100

Trimester III merupakan persentase tertinggi subjek penelitian ini (Tabel 3) meskipun juga ada subjek menunjukkan preeklampsia pada trimester II. Hasil tersebut juga sesuai dengan penelitian Qoyimah tahun 2016 bahwa pada semua subjek penelitiannya (N=17) juga menunjukkan kelompok trimester III merupakan waktu paling banyak terjadi preeklampsia berat. Adanya subjek pada trimester II diduga mungkin karena adanya faktor lain yang tidak tercatat di rekam medis seperti riwayat keluarga.

3.2 Evaluasi penggunaan obat antihipertensi

3.2.1 Data penggunaan obat antihipertensi.

Guideline ACOG 2013 memberikan rekomendasi pemberian antihipertensi menurut yaitu labetalol, nifedipin, metildopa dan hydralazin. Adapun penggunaan obat antihipertensi pasien dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Data penggunaan obat antihipertensi (N=76). Persentase = jumlah frekuensi setiap obat / total frekuensi pemberian antihipertensi preeklampsia berat x 100%.

Terapi	Nama Obat	Dosis	JumlahKasus	Persentase (%)
Tunggal	Nifedipin	3x 10 mg	50	65,79
	Metildopa	3 x 250 mg	18	23,68
Kombinasi	Nifedipin + Metildopa	3x 10 mg	8	10,53
		3 x 250 mg		
	Total		76	100

Nifedipin memiliki persentase tertinggi (Tabel 4) pada penelitian ini. Hasil ini juga sesuai dengan penelitian Qoyimah (2016) bahwa nifedipin merupakan obat antihipertensi yang paling sering diberikan bagi pasien preeklampsia. Alasan nifedipin banyak digunakan dapat dilihat pada pembahasan ketepatan obat. Sebanyak 8 pasien mendapatkan terapi kombinasi. Menurut JNC VII (2003), terapi hipertensi dapat digunakan kombinasi jika tekanan darah belum berhasil terkontrol dengan monoterapi.

- Evaluasi ketepatan obat.

Ketepatan obat dilihat dari pemilihan antihipertensi yang disesuaikan dengan *guideline* ACOG tahun 2013, dilihat sesuai tidaknya merupakan *drug of choice* dari antihipertensi yang

diberikan pada pasien preeklampsia berat. Ketepatan obat berkaitan dengan pemilihan kelas terapi dan jenis obat berdasarkan pertimbangan manfaat, keamanan dan mutu obat. Seperti terlihat pada Tabel 4 sebelumnya, maka penggunaan nifedipin, metildopa, dan kombinasi keduanya sudah tepat obat. Kedua jenis obat antihipertensi tersebut merupakan *drug of choice* untuk pasien preeklampsia berat menurut *guideline* ACOG 2013 selain labetalol dan hidralazin. Metildopa menstimulasi reseptor alfa adrenergik sehingga akan mengurangi efek simpatik nor epinefrin pada jantung, ginjal, dan pembuluh darah perifer. Hal ini akan mengurangi tekanan darah. Metildopa telah digunakan secara luas pada pasien preeklampsia. Penggunaan metildopa dapat saja kurang berefek pada sebagian pasien dikarenakan onset metildopa hanya 3-6 jam sehingga dapat dikombinasikan dengan obat antihipertensi lain.

Nifedipin adalah obat penghambat kanal kalsium yang juga telah lama digunakan pada pasien hipertensi dalam kondisi hamil. Adanya penghambatan kanal kalsium akan berefek ke penurunan denyut jantung dan akhirnya dapat mengurangi tekanan darah (Odigboegwu *et al.*, 2018). Nifedipin merupakan obat yang ideal untuk penanganan preeklampsia karena nifedipin mempunyai onset yang cepat, dapat diberikan peroral dan efektif menurunkan tekanan darah tanpa menyebabkan efek samping yang berbahaya. Selain itu, nifedipin juga memberikan aksi tanpa menurunkan aliran darah uteroplasenta dan tidak menyebabkan abnormalitas pada jantung janin (Qoyimah, 2016).

Studi *randomized controlled trial* yang dilakukan oleh Easterling *et al.* (2019) membandingkan efikasi tiga obat oral antihipertensi yaitu labetalol, nifedipin, dan metildopa pada kehamilan disertai tekanan darah tinggi. Penelitian tersebut melibatkan 894 perempuan hamil dengan hipertensi, sebanyak 298 orang menggunakan nifedipin, 295 orang menggunakan labetalol, dan 301 orang menggunakan metildopa. Hasil penelitian menunjukkan semua obat mampu menurunkan tekanan darah pada sebagian besar subjek. Sebagai agen monoterapi, nifedipin menunjukkan efikasi yang lebih baik dari labetalol dan metildopa.

Tabel 5. Evaluasi ketepatan dosis penggunaan antihipertensi pasien (N=76). Persentase = dihitung dari $n/N \times 100\%$.

Nama Obat /jumlah (n)	Dosis pemakaian	Dosis menurut ACOG (2013)	Persentase (%)
Nifedipin/ 50 kasus	3 x 10 mg	10-20 mg, jika perlu diulang setiap 30 menit lalu 10-20 mg/ 2-6 jam	Tepatdosis (65,79)
Metildopa/18 kasus	3 x 250 mg 3x 500 mg	0,5 – 3 gram/hari terbagi dalam 2 hingga 3 kali dosis	Tepat dosis (23,68)
Nifedipin + Metildopa/8 kasus	Nifedipin: 3 x 10 mg Metildopa: 3 x 250 mg	Nifedipin: 10-20 mg, jika perlu diulang setiap 30 menit kemudian 10-20 mg setiap 2-6 jam Metildopa: 0,5 – 3 gram/hari terbagi dalam 2 hingga 3 kali dosis	Tepat dosis (10,53)

- Evaluasi ketepatan dosis.

Tepat dosis adalah jumlah obat yang diberikan berada dalam rentang terapi menurut *guideline* ACOG 2013. Data ketepatan dosis obat antihipertensi tersebut dapat dilihat pada Tabel 5, dimana menunjukkan bahwa semua *obat antihipertensi* yang diberikan pada pengobatan pasien sudah tepat dosis.

- Evaluasi *outcome* terapi berdasarkan target tekanan darah.

Hasil penelitian menunjukkan tekanan darah semua pasien saat keluar rumah sakit sudah mencapai target terapi yaitu $< 160/100$ mmHg. Berdasarkan *guideline* ACOG tahun 2013 target terapi yang ingin dicapai setelah pemberian obat antihipertensi adalah $<160/100$ mmHg pada saat pasien diperbolehkan pulang. Berdasarkan hasil ketepatan obat, dosis, dan pencapaian *outcome* target tekanan darah, maka semua obat antihipertensi pada penelitian ini telah efektif. Studi *randomized controlled trial* yang dilakukan oleh Easterling *et al.* (2019) juga menunjukkan bahwa penggunaan nifedipin mampu mencapai *outcome* target tekanan darah yang signifikan dibandingkan dengan kelompok yang menggunakan metildopa dan labetalol. Penelitian tersebut menentukan target tekanan darah sistolik sebesar 120-150 mmHg, dan tekanan darah diastolik sebesar 70-100 mmHg.

Keterbatasan penelitian ini adalah peneliti tidak melihat hubungan antar faktor resiko kejadian preeklampsia berat. Penelitian ini juga hanya membahas terapi obat hipertensi saja, dan tidak membahas obat-obat lain yang digunakan. Data fungsi ginjal terkait kondisi proteinuria selama dan setelah pemberian antihipertensi juga tidak diamati. Peneliti juga hanya menggunakan *guideline* ACOG tahun 2013 saja sehingga hasil penelitian yang diperoleh ini kurang lengkap dan maksimal. Penelitian selanjutnya disarankan dapat bersifat prospektif, membahas mengenai korelasi antar faktor resiko, melihat manajemen terapi secara keseluruhan terutama kondisi proteinuria pasien dibandingkan dengan *guideline* yang lebih baru dan standar pengobatan di rumah sakit setempat. Sampel yang digunakan juga hendaknya bisa lebih banyak dan menggunakan rekam medis terbaru.

4. Kesimpulan

Obat antihipertensi yang digunakan dari 76 pasien preeklampsia berat di instalasi rawat inap RSUD Dr. Moewardi periode Januari sampai Juni 2017 yaitu nifedipin sebanyak 50 kasus (65,79%), metildopa sebanyak 18 kasus (23,68%), dan nifedipin dan metildopa sebanyak 8 kasus (10,53%). Dibandingkan dengan *guideline* ACOG tahun 2013 didapatkan semua antihipertensi yang digunakan sudah efektif karena tepat obat, tepat dosis dan telah mencapai target *outcome* tekanan darah $<160/100$ mmHg saat pasien keluar rumah sakit.

Deklarasi Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- ACOG, (2013), *Hypertension in Pregnancy*, Washington DC: American College of Obstetricians and Gynecologists.
- Amri, M.U., and Mutmainah, N, (2015), Studi Penggunaan Obat Antihipertensi Pada Pasien Preeklampsia Berat di Instalasi Rawat Inap Rumah Sakit Daerah Dr. Moewardi Surakarta Tahun 2014, *Skripsi*, tersedia dalam <http://eprints.ums.ac.id/41245/> , diakses 10 April 2021.
- Cunningham, F.G., Leveno, K.J., Bloom, S.L., Hauth, J.C., Rouse, D.J., and Spong, C.Y., (2013), *Williams Obstetrics*, 23th Edition, 706-749, TheMcGraw-Hill Companies, New York.
- Easterling, T., Mundle, S., Bracken, H., Parvekar, S., Mool, S., Magee, L.A., van Dadszen, P., Shochet, T, and Winikoff, B., (2019), Oral Antihypertensive Regimens (Nifedipine retard, Labetalol, and Methyldopa) for Management of Severe Hypertension in Pregnancy: an Open Label, Randomized Controlled Trial, *Lancet*, 394: 1011-1021.
- Grum, T., Seifu, A., Abay, M., Angsom, T., and Tsegay, L..(2017), Determinants of Preeclampsia/Eclampsia among Women Attending Delivery Services in Selected Public Hospitals of Addis Ababa, Ethiopia: a Case Control Study, *BMC Pregnancy Childbirth* 17(1): 307.
- Hadad, F.M., Nurmainah, and Andrie, M., (2019), Evaluasi Ketepatan Pemilihan Antihipertensi Pada Pasien Preeklampsia Berat di Instalasi Rawat Inap RSUD Dr. Soedarso Pontianak, *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4 (1): 1-12.
- JNC VII Express, (2003), The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, (2020) , Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2019, tersedia dalam <https://pusdatin.kemkes.go.id/resources/download/pusdatin/profil-kesehatan-indonesia/Profil-Kesehatan-indonesia-2019.pdf> , diakses 8 Juli 2021.
- Kurniasari, D., and Arifandini, F., (2015), Hubungan Usia, Paritas, dan Diabetes Mellitus pada Kehamilan dengan Kejadian Preeklampsia pada Ibu Hamil di Wilayah Kerja Puskesmas Rumbia Kabupaten Lampung Tengah tahun 2014, *J Kesehatan Holistik* , 9(3): 142-150.
- Nurmainah and Alfian, N., (2021), Analisis Kesintasan Laju Kejadian Hipertensi Berdasarkan Perbedaan Usia Akseptor Kontrasepsi Oral, *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 2021, 6(01): 12-19.
- Nursal, D.G.A., Tamela, P., dan Fitriyeni, (2015), Faktor Risiko Kejadian Preeklampsia pada Ibu Hamil di RSUD Dr. M. Djamil Padang Tahun 2014, *Jurnal Kesehatan Masyarakat Andalas*, 10 (1) : 38-44.
- Odigboegwu, O., Pan, L.J., and Chatterjee, P., (2018), Use of Antihypertensive Drugs During Preeclampsia, *Front Cardiovasc Med*, 5:50.
- Osungbade, K.O., and Ige, O.K., (2011), Public Health Perspectives of Preeclampsia in developing countries: implication for health system strengthening, *Journal of Pregnancy*, 10:1-6.
- Perkumpulan Obstetri dan Ginekologi Indonesia, (2016), Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran: Diagnosis dan Tata Laksana Preeklampsia.
- Qoyimah, U.N., (2016), Evaluasi Penggunaan Obat Antihipertensi Pada Pasien Preeklampsia Berat Rawat Inap di RS PKU Muhammadiyah Bantul Periode Januari-Desember 2015, *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina I(2)*, 192-202, Yogyakarta : Universitas Ahmad Dahlan.
- Septiasih, (2018), Faktor Risiko Kejadian Preeklampsia pada Ibu Bersalin di RSUD Wonosari Kabupaten Gunung Kidul Tahun 2017, *Skripsi*, tersedia dalam <http://eprints.poltekkesjogja.ac.id> diakses 10 April 2021.
- Sidani, M and Siddik-Sayyid, S.M, (2011), Preeclampsia, A New Perspective in 2011, *MEJA*, 21 (2), 207-216.
- Sonnayville, C.M.W., Hukkelhoven, C.W., Vlemmix, F., Groen, H, Schutte, J.M., Mol, B.W., and Pampus, M.G.V., (2020), Impact of Hypertension and Preeclampsia Intervention

Trial at Near Term-I (HYPITAT-1) on Obstetric Management and Outcome in The Netherlands, *Ultrasound Obstet Gynecol* , 55 : 58-67.

Tessema, G.A., Tekeste, A., and Ayele, T.A. (2015), Preeclampsia and Associated Factors Among Pregnant Women Attending Antenatal Care in Dessie Referral Hospital, Northeast Ethiopia: a Hospital-Based Study, *BMC Pregnancy ChildBirth* 15(1): 1-7.



© 2021 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).