

Original Research Articles

- Pengaruh Pemberian Suspensi Serbuk dan Nanopartikel Seledri (*Apium graveolens*) Terhadap Kondisi Kolitis Pada Mencit yang Diinduksi DSS (Dextran Sodium Sulphate) 257-267

Chandra Saputra, Ardian Dewangga, Muhammad Novrizal Abdi Sahid, Akhmad Kharis Nugroho

- Karakterisasi Cocrystal Glibenklamida Dengan Variasi Pelarut dan Uji Stabilitas Termal 268-280

Anang Kuncoro Rachmad Setiawan, Iswandi Iswandi, Dian Marlina

- Identification of Off-Label Drugs for Patients with Neurological Disorders at the Psychiatric Hospital "Ghrasia" Yogyakarta 281-293

Bangunawati Rahajeng, Asih Ulandani, Astrit Ikafitriani

- Pengaruh Pemberian Kombinasi Ekstrak Etanol Brotowali, Sambiloto, Meniran dan Kayu Manis Terhadap Histopatologi Glomerulus Tikus Model Hiperglikemia 294-306

Dhadhang Wahyu Kurniawan, Novianti Dian Lestari, Hidayat Sulisty, Cacu Cacu

- Formulasi dan Uji Kestabilan Fisik Suspensi Poliherbal Bawang Putih, Jahe Merah dan Lemon 307-318

Fith Khaira Nursal, Nining Nining, Dania Athaya Putri

- Aktivitas Anti-Inflamasi Minyak Herbal Tradisional Dari Bahan Usada Bali Pada Mencit Inflamasi Yang Diinduksi Karagenan 319-330

Putu Era Sandhi Kusuma Yuda, I Made Agus Mahardika, Erna Cahyaningsih, Maria Malida Vernandes Sasadara, Ni Made Dwi Mara Widyani Nayaka, Ni Luh Kade Arman Anita Dewi

- Formulasi Nanoemulsi Ekstrak Terpurifikasi Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) Terinkorporasi dalam Dissolved Microneedle Patch 331-346

Amalia Daryati, Meila Tunjung Suryaningrum, Ahmad Prakoso, Ikke Ramandhita Mulia Isnaini, Syaiful Choiri

- Hubungan Pengetahuan, Sikap dengan Perilaku Tenaga Kefarmasian Terkait Peredaran Obat Palsu di Apotek Kota Semarang 347-356

Verawati Hadi, Burhannudin Ichsan

- Aktivitas Antioksidan Kulit Jeruk Pacitan (*Citrus sinensis* L.) Terhadap Kadar SGOT dan SGPT Rattus norvegicus Dengan Paparan Logam Berat Timbal (Pb) 357-368

Baterun kunsah, Rinza Rahmawati Samsudin

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 November 2022

Editor JPSCR

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 Darma
- 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

DAFTAR ISI

Pengaruh Pemberian Suspensi Serbuk dan Nanopartikel Seledri (<i>Apium graveolens</i>) Terhadap Kondisi Kolitis Pada Mencit yang Diinduksi DSS (Dextran Sodium Sulphate)	257-267
Chandra Saputra, Ardian Dewangga, Muhammad Novrizal Abdi Sahid, Akhmad Kharis Nugroho	
Karakterisasi Cocrystal Glibenklamida Dengan Variasi Pelarut dan Uji Stabilitas Termal	268-280
Anang Kuncoro Rachmad Setiawan, Iswandi Iswandi, Dian Marlina	
Identification of Off-Label Drugs for Patients with Neurological Disorders at the Psychiatric Hospital “Ghrasia” Yogyakarta	281-293
Bangunawati Rahajeng, Asih Ulandani, Astrit Ikafitriani	
Pengaruh Pemberian Kombinasi Ekstrak Etanol Brotowali, Sambiloto, Meniran dan Kayu Manis Terhadap Histopatologi Glomerulus Tikus Model Hiperglikemia	294-306
Dhadhang Wahyu Kurniawan, Novianti Dian Lestari, Hidayat Sulisty, Cacu Cacu	
Formulasi dan Uji Kestabilan Fisik Suspensi Polih herbal Bawang Putih, Jahe Merah dan Lemon	307-318
Fith Khaira Nursal, Nining Nining, Dania Athaya Putri	
Aktivitas Anti-Inflamasi Minyak Herbal Tradisional Dari Bahan Usada Bali Pada Mencit Inflamasi Yang Diinduksi Karagenan	319-330
Putu Era Sandhi Kusuma Yuda, I Made Agus Mahardika, Erna Cahyaningsih, Maria Malida Vernandes Sasadara, Ni Made Dwi Mara Widyani Nayaka, Ni Luh Kade Arman Anita Dewi	
Formulasi Nanoemulsi Ekstrak Terpurifikasi Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>) Terinkorporasi dalam Dissolved Microneedle Patch	331-346
Amalia Daryati, Meila Tunjung Suryaningrum, Ahmad Prakoso, Ikke Ramandhita Mulia Isnaini, Syaiful Choiri	
Hubungan Pengetahuan, Sikap dengan Perilaku Tenaga Kefarmasian Terkait Peredaran Obat Palsu di Apotek Kota Semarang	347-356
Nisa Febrinasari, Arifin Santoso, Ria Hasrawati	
Aktivitas Antioksidan Kulit Jeruk Pacitan (<i>Citrus sinensis</i> L.) Terhadap Kadar SGOT dan SGPT Rattus norvegicus Dengan Paparan Logam Berat Timbal (Pb)	357-368
Baterun kunsah, Rinza Rahmawati Samsudin	

Pengaruh Pemberian Suspensi Serbuk dan Nanopartikel Seledri (*Apium graveolens*) Terhadap Kondisi Kolitis Pada Mencit yang Diinduksi DSS (Dextran Sodium Sulphate)

Chandra Saputra¹, Ardian Dewangga¹, Muhammad Novrizal Abdi Sahid^{2*} dan Akhmad Kharis Nugroho³

¹Program Studi Magister Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Jl. Sekip Utara, Yogyakarta, Indonesia, 55281.

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

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

*email korespondensi: m.novrizal.a@ugm.ac.id

Received 23 October 2021, Accepted 07 September 2022, Published 15 November 2022

Abstrak: Kolitis adalah penyakit yang mekanismenya didasari oleh infiltrasi sel radang ke mukosa saluran cerna. Sejumlah tanaman memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi salah satunya adalah tanaman seledri (*Apium graveolens*). Kandungan fenolik dan flavonoid dari tanaman seledri, berpotensi memberikan efek proteksi pada lambung dan menurunkan iritasi lambung serta berpotensi digunakan sebagai antiinflamasi pada penyakit kolitis. Pengembangan tanaman seledri menjadi suatu bentuk sediaan obat tradisional memiliki beberapa kendala antara lain kelarutan yang kecil dari suatu ekstrak tanaman yang mengakibatkan absorpsi dan bioavailabilitas yang rendah, sehingga perlu dilakukan pengembangan sediaan, seperti dalam bentuk nanopartikel. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek pemberian Suspensi Serbuk dan Nanopartikel Seledri terhadap kondisi kolitis pada mencit yang diinduksi DSS. Metode penelitian ini menggunakan mencit jantan galur DDY, yang dibagi menjadi 4 kelompok, kelompok 1 diberikan Suspensi Nanopartikel Seledri (NS) dosis 350 mg/kgBB selama 5 hari pada mencit yang diinduksi DSS 4%, kelompok 2 diberikan Suspensi Serbuk Seledri (SS) dosis 700 mg/kgBB selama 5 hari pada mencit yang diinduksi DSS 4%, kelompok 3 diberikan CMC-Na 0,25% selama 5 hari pada mencit yang diinduksi DSS 4%, dan kelompok 4 diberikan 5-Asam Aminosalisilat (5-ASA) dosis 100 mg/kgBB selama 5 hari pada mencit yang diinduksi DSS 4%. Kemudian dilakukan pengamatan skoring indeks aktivitas kolitis. Penelitian ini menunjukkan bahwa seledri dalam bentuk nanopartikel memberikan efek perbaikan pada kondisi kolitis yang signifikan dengan penurunan skor indeks aktivitas kolitis sebesar 73,62% dibandingkan dengan seledri dalam bentuk serbuk ($p < 0,05$).

Kata kunci: DSS; kolitis; mencit; nanopartikel; seledri; serbuk

Abstract. The effect of celery (*Apium graveolens*) nanoparticle water suspension on Dextran Sodium Sulphate (DSS)-induced colitis condition in mice. Colitis is a disease based on inflammatory cell infiltration into the mucosa of the gastrointestinal tract. Several plants have activity as an anti-inflammatory, one of which is a celery plant (*Apium graveolens*). The phenolic and flavonoid content of celery plants potentially provides a protective effect on the gastric and lowers gastric irritation, and potentially is used as an anti-inflammatory agent in colitis diseases. The development of celery plants into a traditional medicinal dosage form has several problems, including the low solubility of a plant extract which results in low absorption and bioavailability, so it is necessary to develop preparations, such as in the form of nanoparticles. This study was determined to the effect of administering Powder Suspension and

Celery Nanoparticles on colitis conditions on DSS-induced mice. The method of this study used DDY male mice, which was divided into 4 groups, group 1 administered Suspension of Celery Nanoparticles (NS) dose 350 mg/kgBW for 5 days on DSS 4% induced mice, group 2 administered Suspension of Celery Powder (SS) dose 700 mg/kgBW for 5 days on DSS 4%, group 3 administered CMC-Na 0.25% for 5 days on a 4% DSS induced mice has and group 4 administered 5-Aminosalicylic Acid (5-ASA) dose 100 mg/kgBW for 5 days on DSS 4% then conducted an observation of the colitis activity index scoring. This study shows that celery in the form of nanoparticles gives an improved significant effect on colitis conditions with a colitis activity score index of 73,62% compared to celery in the form of powders ($p < 0,05$).

Keywords: DSS; colitis; mice; nanoparticles; celery; powders

1. Pendahuluan

Kolitis adalah penyakit yang ditandai dengan terjadinya infiltrasi sel radang ke mukosa saluran cerna yang dapat menyebabkan kongesti saluran cerna dan edema. Sel inflamasi dapat menginfiltrasi keseluruhan kolon atau hanya di sebagian. Gejala kolitis mencakup nyeri perut akut, penurunan berat badan, diarea dan feses yang berdarah (Chen *et al.*, 2019). Prevalensi kolitis saat ini mengalami peningkatan khususnya di Asia. Hal ini disebabkan oleh perubahan gaya hidup, khususnya asupan nutrisi dan lingkungan. Di China, insiden kolitis meningkat hingga 24 kali lipat, sementara secara keseluruhan Eropa dan Amerika Serikat menempati urutan pertama insiden kolitis tertinggi (Fu *et al.*, 2017). Studi epidemiologi tentang *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) di Indonesia menunjukkan tingkat insidensi mencapai 18,6%. Dari total kasus IBD tersebut, 47,2% didiagnosis sebagai kolitis (Syafuruddin *et al.*, 2018). Penyebab kolitis masih belum diketahui secara pasti dan dipercaya melibatkan banyak faktor seperti, gangguan sistem imun, kerentanan genetik, mikrobiota dan faktor lingkungan seperti pengobatan, kebiasaan makan, dan merokok (Nascimento *et al.*, 2020).

Sistem imun pada saluran cerna dilaporkan berperan besar dalam patogenesis kolitis (Gong *et al.*, 2018). Beberapa tahun terakhir penelitian tentang perkembangan kolitis difokuskan pada peradangan abnormal dan fungsi imunitas saluran cerna, dimana sistem imun bawaan dan sistem imun adaptif telah terbukti memainkan peran penting pada peradangan usus (De Souza & Fiocchi, 2016). Umumnya imunosupresan seperti kortikosteroid merupakan salah satu pilihan pengobatan untuk kolitis. Meskipun efektif, namun pilihan pengobatan ini memiliki sejumlah efek samping kortikosteroid seperti *moon face*, acne, peningkatan berat badan dan hipertensi (Choi *et al.*, 2017). Penyebab penyakit kolitis yang belum jelas membuat masyarakat mulai melihat pada alternatif pengobatan, dan pengobatan komplementer sebagai salah satu pilihan bagi penderita kolitis. Penggunaan obat tradisional sebagai alternatif pengobatan sudah sejak lama dilakukan secara turun-temurun berdasarkan pengalaman. Pemanfaatan tanaman herbal sebagai alternatif pengobatan dinilai aman dari segi toksisitas dan efek samping dan dapat digunakan sebagai terapi pelengkap atau *ajuvant* (Zhang, 2015; Faizah *et al.*, 2021).

Penggunaan obat tradisional sebagai komplementer dengan obat konvensional, dapat meningkatkan atau mempercepat penyembuhan (Widowati *et al.*, 2020). Seledri (*Apium graveolens*) berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai alternatif pengobatan karena dapat dimanfaatkan sebagai agen antiinflamasi, kandungan fenolik dan flavonoid dari seledri potensi pembersihan radikal bebas *Nitric Oxide* (NO), efek stabilisasi membran dan pencegahan denaturasi protein (Derouich *et al.*, 2020). Selain itu senyawa flavonoid pada seledri dapat memberikan efek proteksi melawan atau menurunkan iritasi lambung yang disebabkan oleh obat-obat *Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs* (NSAIDs) (Powanda *et al.*, 2015).

Tanaman atau ekstrak tanaman obat (termasuk seledri) yang dikembangkan sebagai obat tradisional memiliki beberapa kendala, antara lain kelarutan yang kecil dari suatu ekstrak tanaman mengakibatkan absorpsi dan bioavailabilitas yang rendah (Musthaba *et al.*, 2009). Bentuk nanopartikel suatu sediaan obat dapat meningkatkan bioavailabilitas obat dan dapat ditujukan untuk penghantaran tertarget (Friedman *et al.*, 2013). Nanopartikel memiliki kemampuan menembus berbagai ruang yang tidak dapat ditembus oleh partikel yang berukuran lebih besar dan diharapkan dapat mengoptimalkan kandungan obat sehingga dosis yang diperlukan menjadi lebih kecil. Kelayakan dari teknologi nanopartikel ini sudah dibuktikan dari penelitian sebelumnya, dimana terbukti meningkatkan aktivitas biologis suatu tanaman, seperti aktivitas antimikroba dan antioksidan (Abraham *et al.*, 2020).

Aktivitas dan potensi biji seledri sebagai proteksi terhadap iritasi gastrointestinal pada penggunaan NSAIDs telah diteliti oleh Powanda *et al.*, (2015). Namun pengaruh pemberian serbuk dan nanopartikel dari daun seledri pada penyakit kolitis belum banyak dilaporkan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian suspensi serbuk dan nanopartikel seledri terhadap kondisi kolitis pada mencit yang diinduksi *Dextran Sodium Sulphate* (DSS) 4%.

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan

Tanaman seledri (identitas telah diverifikasi oleh B2P2TOOT Tawangmangu dengan No. YK.01.03/2/943/2021), *Dextran Sulfate Sodium* 4% (MP Biomedicals), aquades (teknis), CMC-Na 0,25% (teknis), larutan NaCl (Widatra), aqua pro injection (Ikapharmindo Putramas). Mencit jantan galur *Deutschland Denken Yoken* (DDY) usia 8-10 minggu dengan bobot 30-40 g, diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM. Penelitian ini telah dinyatakan memenuhi persyaratan etik oleh Fakultas Kedokteran Hewan UGM berdasarkan surat keterangan kelayakan etik nomor 0048/EC-FKH/Eks./2019.

2.2. Metode

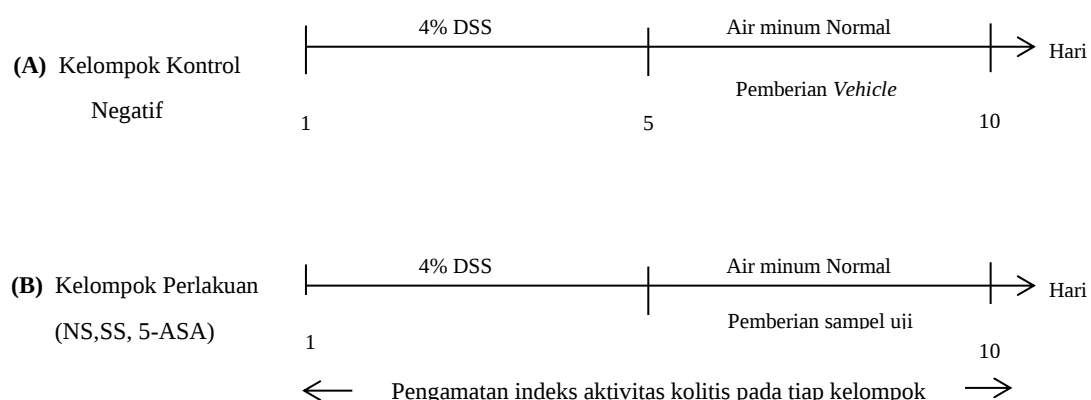
2.2.1. Pembuatan suspensi nanopartikel seledri dan suspensi serbuk seledri

Nanopartikel-seledri dibuat menggunakan metode *bead milling nanonization*. Suspensi 1% *bulk powder* seledri dalam poloxamer 1% di *bead mill* menggunakan *zirconium beads* 1 mm selama 24 jam pada suhu ruang. Suspensi yang dihasilkan dikarakterisasi dengan *mastesizer* dan *particle analyzer* (Griffin *et al.*, 2018).

Nanopartikel seledri sebanyak 350 mg dimasukkan ke dalam gelas beker dan ditambahkan CMC Na 0,25 % b/v sedikit demi sedikit dan diaduk sampai homogen menggunakan *magnetic stirrer*, volume dicukupkan hingga 10 mL. Serbuk seledri dihasilkan dari simplisia kering seledri yang digiling hingga menjadi serbuk dan diayak dengan ayakan nomor *mesh* 40. Sebanyak 700 mg serbuk seledri lalu dimasukkan ke dalam gelas beker dan ditambahkan CMC Na 0,25% b/v sedikit demi sedikit dan diaduk sampai homogen menggunakan *magnetic stirrer*, volume dicukupkan hingga 10 mL.

2.2.2. Desain penelitian dan pembagian kelompok perlakuan

Induksi kolitis pada mencit dilakukan dengan pemberian DSS 4% *ad libitum* selama 5 hari, mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Jeengar *et al.*, (2017). Pemberian suspensi nanopartikel atau bulk powder seledri dilakukan berdasarkan ilustrasi pada Gambar 1. Mencit dipilih secara acak dan dikelompokkan menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 3 mencit.



Gambar 1. Skema Desain Eksperimental kolitis, **(A)** Kelompok kontrol negatif, diberikan DSS 4% *ad libitum* pada hari ke-1 sampai hari ke-5, dan diberikan *vehicle* CMC Na 0,25% pada hari ke-6 sampai hari ke-10 **(B)** Kelompok perlakuan terdiri dari 3 kelompok uji, diberikan DSS 4% *ad libitum* pada hari ke-1 sampai hari ke-5, dan diberikan Suspensi Nanopartikel Seledri (NS) 350 mg/kgBB, Suspensi Serbuk Seledri (SS) 700 mg/kgBB, dan 5-ASA 100 mg/kgBB.

Kelompok hewan uji meliputi:

- Kelompok 1 : pemberian Suspensi Nanopartikel Seledri (NS) dengan dosis 350 mg/kgBB selama 5 hari pada mencit yang diinduksi dengan DSS 4%.
- Kelompok 2 : pemberian Suspensi Serbuk Seledri (SS) dengan dosis 700 mg/kgBB selama 5 hari pada mencit yang diinduksi DSS 4%
- Kelompok 3 (Kontrol Negatif) : pemberian CMC Na 0,25% selama 5 hari pada mencit yang diinduksi DSS 4%.
- Kelompok 4 (Kontrol Positif) : pemberian 5-asam aminosalisilat (5-ASA) dengan dosis 100 mg/kgBB selama 5 hari pada mencit yang diinduksi DSS 4%.

2.2.3. Evaluasi kolitis

Penilaian indeks aktivitas penyakit dilakukan pada setiap kelompok selama periode perlakuan meliputi; bobot badan, konsistensi feses, dan keberadaan darah pada feses berdasarkan kriteria skoring indeks aktivitas penyakit (Jeengar *et al.*, 2017). Skor untuk setiap parameter dijumlahkan untuk menghasilkan skor total dan dibandingkan dengan tiap kelompok perlakuan untuk mengetahui tingkat keparahan kolitis, seperti ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Skoring indeks aktivitas kolitis pada mencit yang diinduksi DSS (Skoring diadaptasi dari Jeengar *et al.*, 2017).

Berat Badan		Konsistensi Feses		Keberadaan darah pada feses	
Range	Skor	Kriteria	Skor	Kriteria	Skor
None	0	Bentuk normal	0	Negatif/tidak ada darah	0
1-5%	1	Lembek	2	Positif/ada penampakan darah	2
5-10%	2				
10-20%	3	Diare	4	Perdarahan	4
>20%	4				

2.3. Analisis data

Data kuantitatif dari perubahan berat badan mencit dan indeks aktivitas kolitis ditampilkan dalam bentuk nilai rata-rata dan standard error, dan dianalisis menggunakan *software* SPSS dengan dianalisis secara non-parametrik dengan uji Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney dengan signifikansi <0,05 untuk melihat perbedaan secara statistik.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Karakteristik nanopartikel

Karakteristik nanopartikel seledri meliputi ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial seperti pada Tabel 2, diperoleh nilai ukuran partikel $205,33 \pm 6,8245$ nm, nilai ini merupakan nilai ukuran partikel yang baik karena masuk pada rentang ukuran 1 - 1000 nm (Martien *et al.*, 2012). Hasil indeks polidispersitas menunjukkan nilai $0,567 \pm 0,0436$ termasuk dalam rentang nilai indeks yang menunjukkan distribusi dan homogenisasi partikel yang baik

yaitu antara 0,08 - 0,7 (Meitria, 2017). Nilai zeta potensial diperoleh hasil -14,97 mV, nilai ini menunjukkan hasil stabilitas kurang stabil. Nilai zeta potensial yang stabil adalah lebih dari + 30 mV dan kurang dari -30 mV. Nilai zeta potensial menunjukkan kekuatan partikel untuk saling tolak menolak untuk menghasilkan dispersi sediaan yang stabil (Wulansari, 2019). Peneliti tidak melakukan formulasi nanopartikel seledri, hanya disuspensikan menggunakan CMC Na 0,25%.

Tabel 2. Karakteristik nanopartikel seledri yang diproduksi menggunakan metode bead milling.

Sampel	Rata-rata ± Standar Deviasi			
	$\bar{z}$ ukuran partikel	Indeks Polidispersitas	Zeta Potensial dalam 50 μ S	Zeta Potensial Permukaan
Nanopartikel Seledri	205,33 ± 6,8245	0,567 ± 0,0436	-14,97 ± 0,2082	-10,16 ± 2,8149

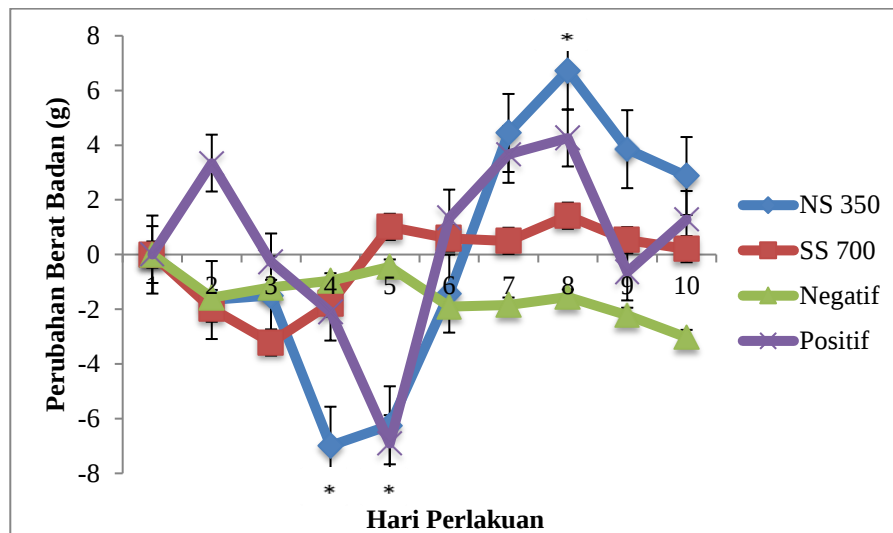
3.2. Evaluasi indeks aktivitas kolitis

Aktivitas kolitis ditentukan dengan melakukan penilaian atau skoring terhadap berat badan, konsistensi feses, dan keberadaan darah pada feses. Hasil evaluasi indeks aktivitas kolitis dihitung dari total skor penurunan berat badan, konsistensi feses, dan keberadaan darah pada feses selama 10 hari perlakuan untuk menganalisis potensi serbuk dan nanopartikel seledri sebagai antikolitis.

Pengamatan berat badan mencit merupakan salah satu parameter yang diamati dalam mengevaluasi aktivitas kolitis. Pengamatan berat badan pada setiap mencit dilakukan selama 10 hari, dimana 5 hari pertama diberikan induksi DSS 4% pada air minum mencit.

Berat badan mencit mulai menunjukkan penurunan setelah pemberian DSS 4%. Pada hari ke-4 dan 5 terjadi penurunan berat badan yang signifikan pada kelompok positif dan NS 350 dibandingkan dengan kelompok normal ($p < 0,05$), seperti ditunjukkan pada Gambar 2. Iritasi pada kolon menyebabkan nafsu makan pada mencit menjadi berkurang sehingga berpengaruh pada penurunan berat badan mencit (Dewangga *et al.*, 2022). Pengamatan setelah pemberian perlakuan pada mencit menunjukkan adanya peningkatan berat badan mencit kembali pada kondisi normal dan terjadi peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok negatif pada hari ke-8 pada kelompok pemberian suspensi nanopartikel seledri dosis 350 mg/kgBB, dan kontrol positif 5-ASA 100mg/kgBB, kemudian sampai dengan hari ke-10 terjadi fluktuasi berat badan mencit yang masih pada tahap normal. Pada kelompok suspensi serbuk seledri dosis 700 mg/kgBB tidak terjadi perubahan berat badan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif ($P > 0,05$). Berdasarkan pengamatan ini diketahui pemberian DSS 4% selama 5 hari pada mencit menyebabkan penurunan berat badan mencit dibanding kelompok normal dan penghentian DSS 4% serta pemberian suspensi nanopartikel seledri dosis 350

mg/kgBB, dan kontrol positif 5-ASA 100mg/kgBB, mampu memberikan efek perlindungan terhadap penurunan berat badan mencit.

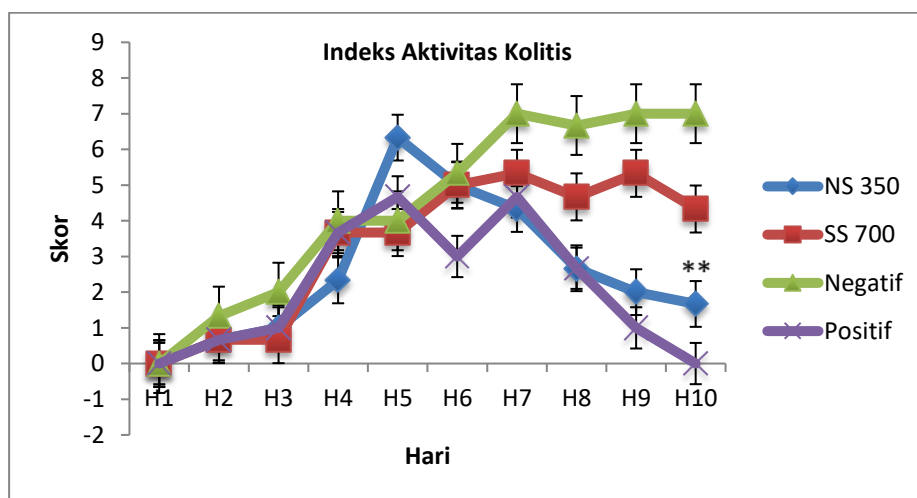


Gambar 2. Pengaruh pemberian suspensi nanopartikel seledri terhadap skor penurunan berat badan pada mencit yang diinduksi DSS 4%. Data ditampilkan sebagai rata-rata $\pm$ standar error ($n=3$). NS 350 = Nanopartikel Seledri dosis 350 mg/kgBB, SS 700 = Serbuk Seledri dosis 700 mg/kgBB, Negatif= Kontrol Negatif DSS 4%, Positif = Kontrol Positif 5-ASA dosis 100mg/kgBB. * $P<0,05$ vs Negatif.

Penelitian ini, pemberian DSS dengan konsentrasi 4% selama 5 hari menyebabkan terjadinya kerusakan dan gangguan pada jaringan kolon yang ditandai dengan peningkatan indeks aktivitas kolitis mulai hari ke-3 yang ditunjukkan pada Gambar 3. Pada model DSS, sulfat polisakarida bertindak sebagai bahan kimia toksin ke epitel kolon yang menghasilkan kerusakan pada sel epitel (Eichele & Kharbanda, 2017). Sifat toksik tersebut menghasilkan respon imun yang mengubah fungsi barrier mukosa di seluruh epitel kolon dan masuknya organisme luminal atau produknya ke dalam lamina propria. Hal tersebut menghasilkan stimulasi elemen limfoid innate dan adaptif serta sekresi sitokin dan kemokin proinflamasi. Selain itu, dapat memicu masuknya sel dengan potensi sitotoksik seperti neutrofil dan makrofag inflamasi yang ditandai dengan erosi/ulkus, hilangnya kriptas, dan infiltrasi granulosit (Kiesler *et al.*, 2015). Pemberian DSS *ad libitum* pada mencit dapat menghasilkan perubahan histologis akut pada kolon dengan paparan yang relatif singkat (4 hingga 7 hari) pada DSS dosis tinggi (Chassaing *et al.*, 2014).

Aktivitas dan potensi biji seledri sebagai proteksi terhadap iritasi gastrointestinal pada penggunaan NSAIDs telah diteliti oleh Powanda *et al.*, (2015). Namun pengaruh pemberian serbuk dan nanopartikel dari daun seledri pada penyakit kolitis belum banyak dilaporkan. Dari hasil pengamatan yang dilakukan, dapat dilihat pada Gambar 3, menunjukkan skor indeks aktivitas kolitis dari hari ke-1 sampai dengan hari ke-10. Pada hari ke-3 setelah pemberian DSS

4%, terjadi kenaikan indeks aktivitas kolitis pada masing-masing kelompok. Pada hari ke-5, kelompok kontrol negatif memiliki tingkat keparahan tertinggi dibanding kelompok lainnya, sampai dengan hari ke-10. Pada kelompok pemberian Suspensi Nanopartikel Seledri (NS) dosis 350 mg/kgBB dan Suspensi Serbuk Seledri (SS) dosis 700 mg/kgBB menunjukkan adanya penurunan skor indeks aktivitas kolitis yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif sampai hari ke-10 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya pengaruh pemberian suspensi nanopartikel seledri dan serbuk seledri pada perbaikan kondisi kolitis. Pada kelompok NS menunjukkan penurunan skor indeks aktivitas kolitis yang signifikan dibandingkan dengan kelompok SS ($p < 0,05$). Penurunan skor indeks aktivitas kolitis paling besar pada hari terakhir ditunjukkan pada kelompok kontrol positif dimana skor indeks aktivitas kolitis kembali pada kondisi normal (100%), diikuti kelompok NS dengan persentase sebesar 73,62%, sedangkan pada kelompok SS dan kontrol negatif tidak terjadi penurunan skor indeks aktivitas kolitis sampai hari terakhir. Pada kelompok kontrol positif pemberian 5-ASA dosis 100 mg/kgBB tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok NS ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya potensi suspensi nanopartikel seledri sebagai agen antikolitis. Perbedaan partikel yang berukuran nano menunjukkan adanya pengaruh yang bermakna pada kondisi kolitis.



Gambar 3. Grafik indeks aktivitas kolitis tiap kelompok. Data ditampilkan sebagai rata-rata $\pm$ standar error dari skoring indeks aktivitas kolitis ($n=3$). NS 350 = Nanopartikel Seledri dosis 350 mg/kgBB, SS 700 = Serbuk Seledri dosis 700 mg/kgBB, Negatif= Kontrol Negatif DSS 4%, Positif = Kontrol Positif 5-ASA dosis 100mg/kgBB. ** $p < 0,05$ vs Kontrol Negatif.

Senyawa flavonoid dalam kandungan seledri diduga memiliki peranan penting dalam perbaikan kondisi kolitis. Kandungan fitokimia seledri yang kaya akan flavon, glikon, dan aglikon yang memiliki aktivitas antiinflamasi dengan mekanisme menurunkan produksi $\text{TNF-}\alpha$ dan menghambat aktivitas transkripsional NF- κB (Hostetler *et al.*, 2012). Senyawa flavonoid

seledri mengandung senyawa aktif apigenin dan apiin yang diketahui memiliki manfaat untuk digunakan sebagai antiinflamasi melalui penghambatan COX-2 yang kuat (Goodman, 2008). Apigenin secara signifikan menekan peningkatan regulasi TNF-alpha-*stimulated* dari molekul adhesi seluler vaskular-1 (VCAM-1), molekul adhesi intraseluler-1 (ICAM-1), dan E-selectin-mRNA ke tingkat basal juga dapat menghambat IL-1 β (Yang *et al.*, 2013).

Modifikasi ukuran partikel menjadi nanopartikel diperkirakan meningkatkan bioavailabilitas zat aktif seledri. Peningkatan bioavailabilitas ini dimungkinkan bisa meningkat dengan mekanisme paraseluler dan transseluler. Kedua mekanisme ini tidak hanya dipengaruhi oleh kelarutan tetapi juga transport aktif atau melalui *channel* tertentu pada membran sel. Peningkatan bioavailabilitas juga dimungkinkan karena nilai zeta potensial yang negatif memungkinkan untuk nanopartikel memiliki waktu transit lebih lama pada mukosa gastrointestinal sehingga memiliki waktu yang banyak untuk dapat melepaskan zat aktif. Akan tetapi untuk menentukan apakah nanopartikel seledri meningkatkan bioavailabilitas zat aktif dengan peningkatan kelarutan, peningkatan transport aktif, atau melalui channel pada membran sel, atau memperpanjang waktu transit pada saluran gastrointestinal membutuhkan penelitian lanjut yang lebih komprehensif, yang belum dapat dilakukan saat ini.

4. Kesimpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian seledri dalam bentuk nanopartikel dosis 350 mg/kgBB pada mencit dapat memberikan efek perbaikan yang signifikan ($p < 0,05$) pada kondisi kolitis dengan penurunan skor indeks aktivitas kolitis sebesar 73,62% dan mampu memberikan efek perlindungan terhadap penurunan berat badan mencit dibandingkan dengan pemberian seledri dalam bentuk serbuk.

Ucapan Terimakasih

Kami berterimakasih kepada Universitas Gadjah Mada atas program Rekognisi Tugas Akhir (RTA 2021) kepada koresponding author atas pendanaan penelitian ini. Terimakasih kepada teknisi dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada atas bantuan dan bimbingannya.

Deklarasi Konflik Kepentingan

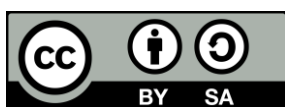
Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap penelitian dan publikasi naskah ini.

Daftar Pustaka

Abraham, A. M., Alnemari, R. M., Jacob, C., dan Keck, C. M. (2020). Plant CrystalsâNanosized Plant Material for Improved Bioefficacy of Medical Plants. *Materials*, 13(19), 4368–. doi:10.3390/ma13194368

- Chassaing, B., Aitken, J. D., Malleshappa, M., dan Vijay-Kumar, M. (2014). Dextran Sulfate Sodium (DSS)-Induced Colitis in Mice. *Current Protocols in Immunology*, 104(1). <https://doi.org/10.1002/0471142735.im1525s104>
- Chen, W., Fan, H., Liang, R., Zhang, R., Zhang, J., dan Zhu, J. (2019). Taraxacum officinale extract ameliorates dextran sodium sulphate-induced colitis by regulating fatty acid degradation and microbial dysbiosis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 23(12), 8161–8172. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14686>
- Choi, J. H., Chung, K. S., Jin, B. R., Cheon, S. Y., Nugroho, A., Roh, S. S., dan An, H. J. (2017). Anti-inflammatory effects of an ethanol extract of *Aster glehni* via inhibition of NF- κ B activation in mice with DSS-induced colitis. *Food and Function*, 8(7), 2611–2620. <https://doi.org/10.1039/c7fo00369b>
- De Souza, H. S. P., dan Fiocchi, C. (2016). Immunopathogenesis of IBD: Current state of the art. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 13(1), 13–27. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.186>
- Derouich, M., Bouhlali, E. D. T., Bammou, M., Hmidani, A., Sellam, K., dan Alem, C. (2020). Bioactive Compounds and Antioxidant, Antiperoxidative, and Antihemolytic Properties Investigation of Three *Apiaceae* Species Grown in the Southeast of Morocco. *Scientifica*, 2020, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2020/3971041>
- Dewangga, A., Saputra, C., Sahid, M.N.A., dan Gani, A.P. (2022). Ekstrak Etanolik Seledri (*Apium graveolens* L.) Memperbaiki Indeks Aktivitas Penyakit Kolitis Ulseratif dan Makroskopik Panjang Kolon Pada Tikus Yang di Induksi Asam Asetat. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*
- Eichele, D. D., dan Kharbada, K. K. (2017). Dextran sodium sulfate colitis murine model: An indispensable tool for advancing our understanding of inflammatory bowel diseases pathogenesis. *World Journal of Gastroenterology*, 23(33), 6016–6029. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i33.6016>
- Faizah, A.N., Kundarto, W., dan Sasongko, H., (2021). Uji Aktivitas Antipiretik Kombinasi Ekstrak Etanol Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dan Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* L.) Pada Mencit yang Diinduksi Ragi. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*.
- Friedman, A., Claypool, S., dan Liu, R. (2013). The Smart Targeting of Nanoparticles. *Current Pharmaceutical Design*, 19(35), 6315–6329.
- Fu, X., Sun, F., Wang, F., Zhang, J., Zheng, B., Zhong, J., Yue, T., Zheng, X., Xu, J. F., dan Wang, C. Y. (2017). Aloperine Protects Mice against DSS-Induced Colitis by PP2A-Mediated PI3K/Akt/mTOR Signaling Suppression. *Mediators of Inflammation*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/5706152>
- Gong, Z., Zhao, S., Zhou, J., Yan, J., Wang, L., Du, X., Li, H., Chen, Y., Cai, W., dan Wu, J. (2018). Curcumin alleviates DSS-induced colitis via inhibiting NLRP3 inflammasome activation and IL-1 β production. *Molecular Immunology*, 104(March), 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2018.09.004>
- Goodman, G. (2008). *The Pharmacological basis and therapeutics*. Bandung: Buku Kedokteran EGC.
- Griffin, S., Sarfraz, M., Farida, V., Nasim, M. J., Ebokaiwe, A. P., Keck, C. M., dan Jacob, C. (2018). No time to waste organic waste: Nanosizing converts remains of food processing into refined materials. *Journal of Environmental Management*, 210, 114–121. [doi:10.1016/j.jenvman.2017.12.084](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.12.084)
- Hostetler, G., Riedl, K., Cardenas, H., Dios-Toro, M., Arango, D., Schwartz, S., dan Doseff, A. I. (2012). Flavone deglycosylation increases their anti-inflammatory activity and absorption. *Molecular Nutrition & Food Research*, 56(4), 558–569. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100596>

- Jeengar, M. K., Thummuri, D., Magnusson, M., Naidu, V. G. M., dan Uppugunduri, S. (2017). Uridine Ameliorates Dextran Sulfate Sodium (DSS)-Induced Colitis in Mice. *Scientific Reports*, 7(1), 3924. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04041-9>
- Kiesler, P., Fuss, I. J., dan Strober, W. (2015). Experimental Models of Inflammatory Bowel Diseases. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 1(2), 154–170. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2015.01.006>
- Martien, R., Adhyatmika, A., Irianto, I. D., Farida, V., dan Sari, D. P. (2012). Perkembangan teknologi nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat. *Majalah Farmaseutik*, 8(1), 133-144.
- Meitria. (2017). Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel Isolat Andrografolida dengan Variasi Perbandingan PVA (Polyvinyl Alcohol). *skripsi*. Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Musthaba, S. M., Baboota, S., Ahmed, S., Ahuja, A., dan Ali, J. (2009). Status of novel drug delivery technology for phytotherapeutics. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 6(6), 625–637. <https://doi.org/10.1517/17425240902980154>
- Nascimento, R. de P. do, Machado, A. P. da F., Galvez, J., Cazarin, C. B. B., dan Maróstica Junior, M. R. (2020). Ulcerative colitis: Gut microbiota, immunopathogenesis and application of natural products in animal models. *Life Sciences*, 258, 118129. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118129>
- Powanda, M. C., Whitehouse, M. W., dan Rainsford, K. D. (2015). Celery seed and related extracts with antiarthritic, antiulcer, and antimicrobial activities. *Novel natural products: therapeutic effects in pain, arthritis and gastro-intestinal diseases*, 133-153.
- Syafruddin, S., Suriani, S., Nahdawati, N., dan Pakadang, S. R. (2018). Pengaruh Ekstrak Daun Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme*) Terhadap Aktivitas Antimutagenik Pada Mencit (*Mus musculus*) Dengan Menggunakan Metode Mikronukleus Assay. *Media Farmasi*, 14(1), 108. <https://doi.org/10.32382/mf.v14i1.141>
- Widowati, L., Sampurno, O. D., Siswoyo, H., Sasanti, R., Nurhayati, N., dan Delima, D. (2020). Kajian Kebijakan Pemanfaatan Obat Tradisional Di Fasilitas Pelayanan Kesehatan Pada Era Jaminan Kesehatan Nasional. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*, 23(4), 246-255.
- Wulansari S.A. (2019). Pengaruh Konsentrasi Surfaktan PEG-40 HCO Dengan Span 80 Terhadap Karakteristik dan Stabilitas Fisikokimia Nanoemulsi dan nanoemulgel Koenzim Q10. *Jurnal Kimia Riset*. 4(2).
- Yang, M., Cao, L., Xie, M., Yu, Y., Kang, R., Yang, L., Zhao, M., dan Tang, D. (2013). Chloroquine inhibits HMGB1 inflammatory signaling and protects mice from lethal sepsis. *Biochemical Pharmacology*, 86(3), 410–418.
- Zhang, Q. (2015). Traditional and complementary medicine in primary health care, in Alexander Medcalf, Sanjoy Bhattacharya, H. M. M. S. and M. J. (ed.) *Health For All : The Journey of Universal Health Coverage*. *Orient Blackswan Private Limited* 3-6-752, pp. 93–98. doi: 10.26530/oapen_576912.





Karakterisasi *Cocrystal* Glibenklamida Dengan Variasi Pelarut dan Uji Stabilitas Termal

Anang Kuncoro Rachmad Setiawan¹, Iswandi² dan Dian Marlina^{2*}

¹Program Studi S2 Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, JL. Letjen. Sutoyo, Jebres, Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia, 57127.

²Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, JL. Letjen. Sutoyo, Jebres, Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia, 57127.

*email korespondensi: anangkuncoro@gmail.com

Received 08 March 2022, Accepted 27 September 2022, Published 15 November 2022

Abstrak: Glibenklamida termasuk dalam *Biopharmaceutical Classification System* (BCS) kelas II yaitu kelarutannya rendah. Kelarutan dapat ditingkatkan dengan mengubah glibenklamida menjadi bentuk *cocrystal*. Penelitian bertujuan mengetahui karakteristik kristal dan pengaruh termal terhadap *cocrystal* glibenklamida yang dibuat dengan variasi pelarut acetone, etanol dan pelarut acetonitril-acetone, dan untuk mengetahui peningkatan kelarutan *cocrystal* glibenklamida. *Cofomer* yang digunakan asam oksalat dalam perbandingan *equivalensi* molar 1:1 dibuat dengan metode *solvent evaporation*, menggunakan variasi pelarut acetone (F1), etanol (F2) dan pelarut campuran acetonitril-acetone (F3). Karakteristik *cocrystal* menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM), *X-ray diffraction* (XRD), *Fourier Transform Infrared* (FTIR), *Differential Thermal Analysis* (DTA), *Differential Scanning Calorimetry* (DSC), *Thermal Gravimetric Analysis* (TGA) dan uji kelarutan. Hasil penelitian *cocrystal* yang dibuat dengan variasi pelarut acetone (F1), etanol (F2) dan pelarut campuran acetonitril-acetone (F3) pada difraktogram XRD memiliki intensitas kristalisasi sudut 2 θ : (F1) 5230,55; (F2) 4115,12 dan (F3) 3404,17. Hasil spektra FTIR *cocrystal* pada gugus NH (F1) 3398,72 cm⁻¹ (F2) 3381,36 (F3) 3404,51, pada gugus C=O (F1) 1641,42 cm⁻¹; (F2) 1433,17 cm⁻¹; (F3) 1437,64 cm⁻¹. Analisis termal DTA menunjukkan titik leleh pada suhu 141-169,9°C. Nilai *entalpi* (ΔH) dari DSC glibenklamida murni -38,0044 J/g; (F1) -12,14874 J/g; (F2) -38,8612 J/g; (F3) -5,8400 J/g. Hasil uji kelarutan terjadi peningkatan pada F1 6,75-12,65%, F2 7,40-12,52% dan F3 5,46-10,75%. Kesimpulan dari penelitian ini, *cocrystal* glibenklamida yang dibuat dengan variasi pelarut F1, F2 dan F3 memiliki perbedaan karakteristik kristal dan karakteristik terhadap pengaruh termal, *cocrystal* yang dibuat dengan pelarut acetone mempunyai peningkatan kelarutan yang paling tinggi sebesar 12,65 % pada medium pelarut dapar pH 4,5.

Kata kunci: asam oksalat; *cocrystal*; *coformer*; glibenklamida

Abstract. Characterization of Cocrystal Glibenclamide With Variation Of Solutions and Thermal Stability Test. Glibenclamide belongs to the Biopharmaceutical Classification System (BCS) class II, which is low solubility. The solubility can be increased by converting glibenclamide into a multicomponent form called cocrystal. This purpose of the study is determining the characteristics of cocrystal glibenclamide made of various solvents of acetone, ethanol and acetonitrile-acetone solvents, determining the increase of solubility and thermal effects on the physical characteristics of cocrystal glibenclamide. Oxalic acid coformer in a molar equivalence ratio of 1:1 made by solvent evaporation method, using various solvents of acetone (F1), ethanol (F2) and mixed solvent acetonitrile-acetone (F3). Identifying cocrystal characteristics using Scanning Electron Microscopy (SEM), X-ray diffraction (XRD), Fourier Transform Infrared (FTIR), Differential Thermal Analysis (DTA), Differential Scanning Calorimetry (DSC), Thermal Gravimetric Analysis (TGA) and solubility test. The results of the

study of cocrystals made of various solvents of acetone (F1), ethanol (F2) and mixed solvents of acetonitrile-acetone (F3) on XRD diffractograms have crystallization intensity angle of 2θ : (F1) 5230.55; (F2) 4115.12 and (F3) 3404.17. The results of FTIR cocrystal spectra on the NH (F1) 3398.72 cm^{-1} (F2) 3381.36 (F3) 3404.51, in the C=O (F1) 1641.42 cm^{-1} group; (F2) 1433.17 cm^{-1} ; (F3) 1437.64 cm^{-1} . Thermal analysis of DTA shows the melting point at a temperature of 141-169.9C. The enthalpy value (ΔH) of pure glibenclamide DSC is -38.0044 J/g; (F1) -12,14874 J/g; (F2) -38.8612 J/g; (F3) -5.8400 J/g. The results of the solubility test showed an increase in F1 6.75-12.65%, F2 7.40-12.52% and F3 5.46-10.75%. The conclusion of this study, cocrystal glibenclamide made with variations (F1, (F2) and (F3) have different crystal characteristics and characteristics against thermal effects, cocrystal made with acetone solvent has the highest solubility increase of 12.65% in the medium. buffer solvent pH 4.5.

Keywords: oxalic acid; *cocrystal*; *coformer*; glibenclamide

1. Pendahuluan

Prevalensi global diabetes mellitus meningkat dari 4,7% pada tahun 1980 menjadi 8,5% pada tahun 2014 untuk usia di atas 18 tahun. Diabetes merupakan penyebab utama beberapa penyakit yaitu gagal ginjal, stroke, serangan jantung dan kebutaan (Kemenkes RI, 2019). Glibenklamida memiliki kelarutan kecil dalam air dan masuk dalam *Biopharmaceutical Classification System* kelas II ($\sim 38 \text{ mol L}$, 37°C) (Yu *et al.*, 2011). Efek negatif dari obat yang memiliki kelarutan yang rendah yaitu penyerapan buruk, efektivitas obat menjadi berkurang (Reddy & Karunakar, 2011). Formulasi sediaan untuk meningkatkan kelarutan diantaranya dengan pengembangan eksipien dalam bentuk mikropartikel dan nanopartikel dalam formulasi obat (Aanisah *et al.*, 2022). Penambahan bahan penghancur ke dalam rancangan formula bertujuan untuk menjamin apabila tablet bersentuhan dengan zat cair akan pecah menjadi fragmen-fragmen kecil yang mempercepat pelarutan obat (Ainurofiq & Azizah, 2016). Upaya lainnya untuk meningkatkan kelarutan juga dilakukan dengan mengubah *Active Pharmaceutical Ingredient* (API) menjadi bentuk multikomponen contohnya *cocrystal* (Domingos *et al.*, 2015). Metode pembuatan *cocrystal* dikembangkan dengan berbagai teknik seiring dengan kemajuan teknologi dengan penggilingan (*grinding*) tanpa pelarut dan dengan pencampuran pelarut *solvent based method* (Permatasari *et al.*, 2013).

Coformer golongan asam karboksilat terdaftar oleh FDA (*Food and Drug Administration*) sebagai GRAS (*generally reconized as safe*) yang dianggap aman. Golongan asam karboksilat yang sering digunakan untuk membentuk *cocrystal* di antaranya asam oksalat. Asam oksalat dapat digunakan sebagai *coformer* untuk *cocrystal* glibenklamida dengan membentuk ikatan *hydrogen*. (Budiman *et al.*, 2016)

Mekanisme sintesis *cocrystal* dipengaruhi oleh banyak variabel yang sebagian besar dipengaruhi oleh sifat pelarut, keberadaan gugus fungsi, kelarutan reaktan dalam pelarut, dan kondisi eksperimental seperti rasio *stoikiometri* dari *coformer* dan API, suhu, serta pH (Karimi *et al.*, 2018). Pertimbangan pemilihan pelarut dalam terbentuknya kristal multikomponen

didasarkan pada kemampuan pelarut sebagai katalis dalam peningkatan kecepatan pelarutan komponen terbentuknya kristal multikomponen (Douroumis *et al.*, 2017). Pemilihan pelarut yang sesuai sangat penting dilakukan, karena jika salah satu komponen tidak menunjukkan kelarutan dalam pelarutnya, kristal yang diperoleh akan menyusut dan kemudian menghilang dengan pergeseran dari kelarutan. Kelarutan *Active Pharmaceutical Ingredient* (API) dan *coformernya* harus diukur dalam satu set pelarut terbaik untuk keduanya (Berry & Steed, 2017).

Kualitas dan karakteristik *cocrystal* dilakukan dengan *Differential Thermal Analysis* (DTA), *Differential Scanning Calorimetry* (DSC) dan *Thermal Gravimetric Analysis* (TGA) dan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dan profil kelarutan glibenklamida dan *cocrystalnya*. (Dachriyanus, 2004). Penelitian tentang karakteristik kristal, pengaruh termal dan peningkatan kelarutan *cocrystal* glibenklamida dengan *coformer* asam oksalat yang dibuat dengan variasi pelarut acetone, etanol dan pelarut acetonitril-acetone belum pernah dilaporkan. Glibenklamida termasuk dalam *Biopharmaceutical Classification System* (BCS) kelas II yang perlu di tingkatkan kelarutannya dalam bentuk *cocrystal* dan diteliti karakteristik sifat kristal dan pengaruh termal terhadap *cocrystalnya*. Penelitian ini bertujuan mengetahui karakteristik kristal, pengaruh termal terhadap *cocrystal* glibenklamida yang dibuat dengan variasi pelarut acetone, etanol dan pelarut acetonitril-acetone, dan untuk mengetahui peningkatan kelarutan *cocrystal* glibenklamida. Pengamatan karakteristik *cocrystal* glibenklamida dilakukan terhadap morfologi kristal, difraksi kristal, pengaruh termal, perubahan gugus fungsi dan uji kelarutan pada medium pelarut dapar fosfat pH 1,2, pH 4,5 dan pH 6,8.

2. Bahan dan Metode

2.1. Alat dan bahan

Alat gelas (mortir, stamper, pengaduk kaca, cawan porselain, beaker glass), timbangan analitik (Ohaus PA413), shaker (VRN 360), oven (Mettler UN 75), hotplate stirrer (IKA HSG 07, pH meter (Lutron 203), spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10S), DTA/TGA/DSC (Linseis STA PT1600), FTIR (Shimadzu IRPrestige21), XRD (Panalytical X'pert 3), SEM (Phenom Pro X). Bahan yang digunakan glibenklamida (*product number* G0382; CASRN: 10238-21-8), asam oksalat (Merck 8.16144), acetone (Merck 1.00014), etanol (Merck 1.00983), acetonitril (1.00003).

2.2. Pembuatan *cocrystal* glibenklamida

Glibenklamida (CASRN: 10238-21-8) dan asam oksalat (Merck 8.16144) ditimbang masing-masing dengan perbandingan rasio molar (*ekuimolar*) 1:1 (glibenklamida BM 494,0, asam oksalat BM 90,03). Setiap campuran dilarutkan dengan masing-masing pelarut, diaduk homogen. Campuran diuapkan dalam penangas air pada suhu 50°C sampai pelarut menguap

seluruhnya dan terbentuk *cocrystal*. Kristal yang terbentuk dikeringkan dengan di oven pada suhu 50°C selama 2 jam, kemudian disimpan dalam desikator (Budiman *et.al.*, 2016).

2.3. Karakterisasi *cocrystal* glibenklamida

2.3.1. Uji *scanning electron microscopy* (SEM) dan EDX

Identifikasi morfologi permukaan bahan obat menggunakan SEM *Phenom Pro X*. Pengujian SEM dilakukan dengan membandingkan morfologi permukaan bahan obat glibenklamida dengan *cocrystal* glibenklamida.

2.3.2. Uji *x-ray diffraction* (XRD)

Sampel *cocrystal* glibenklamida dikarakterisasi secara difraksi sinar-X dengan sumber radiasi Cu, pengukuran dilakukan dengan menggunakan radiasi Cu Ka ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$), a tahap tabung 40 kV, dan arus tabung 40 mA. Data dikumpulkan dalam kisaran 2 theta dari 5-40° dan di scan kecepatan 1–20/min.

2.3.3. FTIR (Fourier Transform Infrared)

Identifikasi gugus glibenklamida dilakukan dengan melihat spektrum serapan inframerah dari zat yang telah dikeringkan dan didispersikan dalam kalium bromida. Sampel padat dicampur dengan serbuk KBr (5–10% sampel serbuk KBr) dibuat pellet KBr, kemudian dibaca pada bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} pada suhu kamar 28°C, menggunakan alat Shimadzu IRPrestige21.

2.3.4. Analisis *termal cocrystal*

Analisis *termal cocrystal* dilakukan dengan *Differential Thermal Analysis* (DTA), *Differential Scanning Calorimetry* (DSC) dan *Thermal Gravimetric Analysis* (TGA). Sampel sebanyak 5-20 mg diletakkan pada *crucible* alumina instrumen. Analisis termal dilakukan pada rentang temperatur 30 sampai 550°C dengan laju pemanasan 10°C per menit. Termograf dicatat di bawah aliran gas 50 mL/menit.

2.4. Uji kelarutan

Cocrystal sebanyak 50 mg dimasukkan dalam erlenmeyer ditambah 50 ml medium uji kelarutan yaitu pH 1,2; pH 4,5 dan pH 6,8, kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 15 jam dengan kecepatan 250 rpm pada suhu ruang 28°C. Larutan yang dihasilkan disaring dengan kertas saring Whatman No. 41. Absorbansi ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 232 nm.

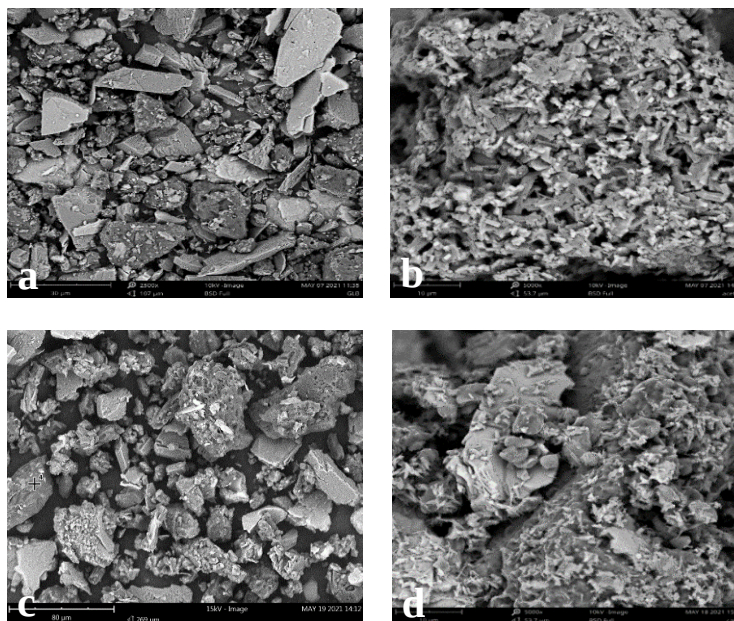
3. Hasil dan pembahasan

3.1. Karakterisasi *cocrystal* glibenklamida

3.1.1. Uji *scanning electron microscopy* (SEM)

Scanning permukaan glibenklamida dengan perbesaran 2500 kali menunjukkan bentuk partikel yang terlihat seperti bongkahan berbentuk lonjong, halus dan tidak seragam, gambar

hasil uji SEM dapat dilihat pada Gambar 1, a) Hasil uji SEM pada *cocrystal* glibenklamida dengan pelarut aceton, b) menunjukkan morfologi kristal yang padat dengan ukuran yang hampir seragam, saling menempel. *cocrystal* glibenklamida yang dibuat dengan pelarut etanol, dan c) menunjukkan morfologi kristal yang padat dengan ukuran yang hampir seragam, saling menempel, sedikit berrongga. Hasil uji SEM pada *cocrystal* glibenklamida dengan pelarut campuran acetonitril aceton yang dapat dilihat d) menunjukkan morfologi kristal yang padat dengan ukuran yang hampir sama, saling menempel, sedikit berrongga dan runcing.



Gambar 1. Hasil uji SEM dengan perbesaran 2500 kali. Keterangan : a) glibenklamida murni, b) *cocrystal* glibenklamida yang dibuat dengan pelarut aceton, c) *cocrystal* glibenklamida yang dibuat dengan pelarut etanol, d) *cocrystal* glibenklamida yang dibuat dengan pelarut campuran acetonitril dan aceton.

3.1.2. Uji *x-ray diffraction* (XRD)

Alat XRD bekerja dengan memantulkan sinar x yang disinarkan pada permukaan kristal ke sudut 2θ . Interpretasi dari XRD yaitu melihat intensitas puncak difraksi yang khas dan tajam ke atas pada sudut tertentu yang akan menunjukkan zat bersifat kristalin. Pengujian XRD dilakukan dengan kondisi : *Start Position* [$^{\circ}2\theta$,] 10,0100, *End Position* [$^{\circ}2\theta$,] 79,9900, *Step Size* [$^{\circ}2\theta$,] 0,0200, *Measurement Temperature* [$^{\circ}\text{C}$] 25,00, Analisa hasil pengujian XRD *cocrystal* glibenklamida dibandingkan dengan glibenklamida murni.

Hasil analisis XRD dalam Tabel 1, *cocrystal* glibenklamida dengan pelarut aceton menunjukkan puncak difraktogram tertinggi pada sudut $19,9722^{\circ}$ dengan intensitas 5230,55 cps. *Cocrystal* glibenklamida dengan pelarut etanol menunjukkan puncak difraktogram tertinggi pada sudut $20,0340^{\circ}$ dengan intensitas 4115,12 cps. *Cocrystal* glibenklamida dengan pelarut campuran acetonitril aceton menunjukkan puncak difraktogram tertinggi pada sudut $19,9382^{\circ}$ dengan intensitas 3404,17cps. Hasil uji XRD dalam Gambar 2 terdapatnya puncak yang tajam

menunjukkan glibenklamida bersifat kristalin tidak berubah menjadi amorf. Ketinggain puncak difaktogram glibenklamida murni lebih tinggi dari *cocrystal* glibenklamida hal ini dipengaruhi oleh ukuran kristal dan kristalinitas. Terjadinya penurunan intensitas pada puncak difraktogram *cocrystal* glibenklamida merupakan hasil pengurangan kisi atau bidang dari glibenklamida setelah mengalami proses kristalisasi (Gracesella & Sopyan, 2016).

Tabel 1. Hasil difaktogram dalam sudut 2 θ dan intensitas puncak difraksi (cps) dari uji XRD glibenklamida dan *cocrystal*.

Active Pharmaceutical Ingredient (API)	Sudut 2 θ	Intensitas (cps)
Glibenklamida murni	19,9907	6245,15
<i>Cocrystal</i> GLB-Aceton	19,9722	5230,55
<i>Cocrystal</i> GLB-Etanol	20,0340	4115,12
<i>Cocrystal</i> GLB-Acetonitril aceton	19,9382	3404,17

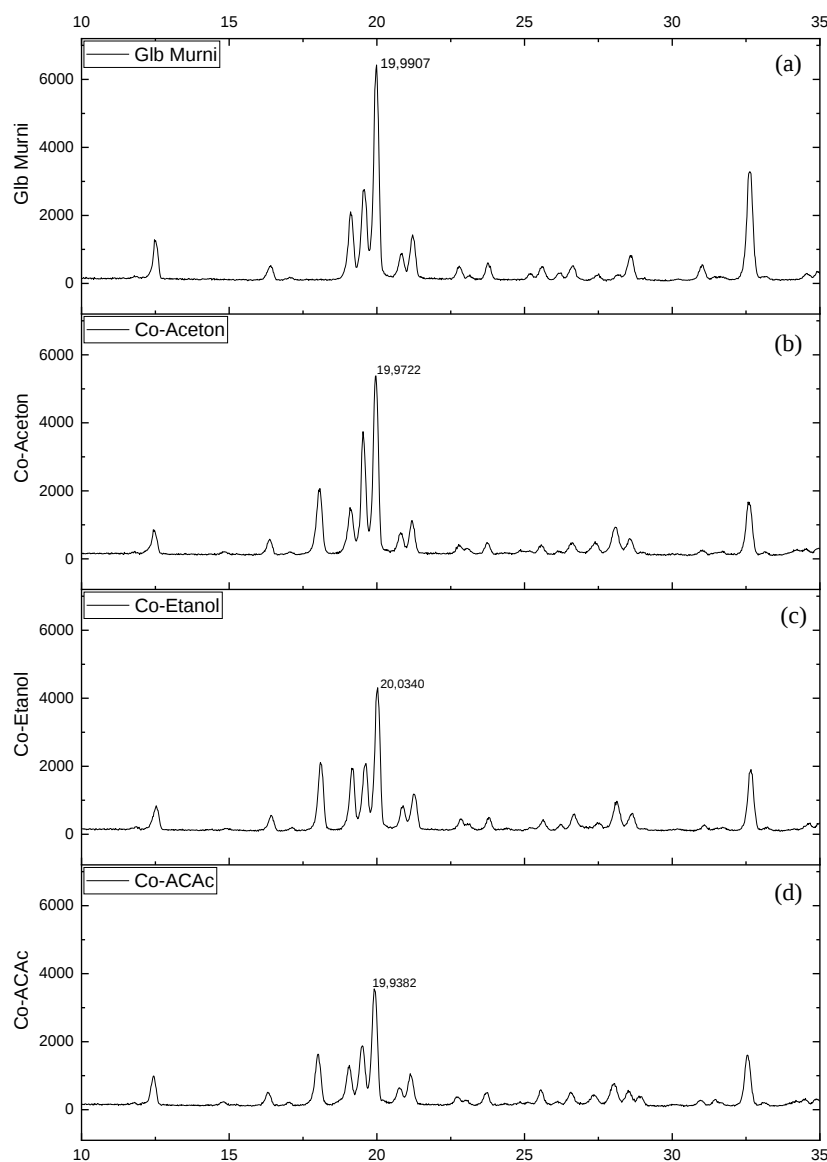
Persamaan Bragg dinyatakan jika suatu kristal mempunyai panjang gelombang yang sama dengan jarak antar kisi kristal maka sinar-X akan dibiaskan sesuai bidang kristalnya. Detektor pada alat akan menangkap sinar yang dibiaskan dan menerjemahkan sebagai puncak difraksi. Kisi atau bidang akan memiliki orientasi dalam sumbu tiga dimensi yang akan dimunculkan sebagai pola XRD, sehingga banyaknya kisi dan bidang kristal akan mempengaruhi intensitas dari kristal.

3.1.3. FTIR (*Fourier Transform Infrared*)

Analisis FTIR digunakan untuk mendeteksi struktur molekul senyawa melalui identifikasi gugus fungsi penyusun senyawa, dengan melihat perubahan frekuensi vibrasi gugus fungsi. *Cocrystal* glibenklamida dengan *coformer* asam oksalat berinteraksi dengan pembentukan ikatan hidrogen, Spektrum FTIR glibenklamida menunjukkan karakteristik puncak dengan intensitas tinggi pada NH 3383,29 cm⁻¹, 2899,12 cm⁻¹ dari CH, 1643,42 cm⁻¹ dari C=O, dan 1439,92 cm⁻¹ dari C=C. Hasil FTIR pada pembentukan *cocrystal* glibenklamida terdapat adanya perubahan pada frekuensi vibrasi gugus fungsi.

Cocrystal dengan pelarut aceton pada Tabel 2 terdapat pelebaran dan pergeseran puncak pada gugus N-H menjadi 3398,72 cm⁻¹ dan peningkatan intensitas pada gugus C-H, dan gugus C=O menjadi 1641,42 cm⁻¹. *Cocrystal* dengan pelarut etanol terdapat sedikit pergeseran puncak pada gugus N-H menjadi 3381,36 cm⁻¹ dan peningkatan intensitas vibrasi pada gugus C-H, serta gugus C=O menjadi 1641,42 cm⁻¹ yang menandakan terbentuknya ikatan hidrogen antara glibenklamida dengan asam oksalat. Terjadi pergeseran spektrum gugus fungsi pada *cocrystal* dengan pelarut asetonitril aceton, N-H menjadi 3404,51 cm⁻¹. Perbedaan pada beberapa daerah puncak terjadi pergeseran regangan N-H, peregangannya CH dan peregangannya OH terkait dengan pembentukan ikatan hidrogen dalam produk penguapan pelarut pada pembentukan *cocrystal*

glibenklamida. Peningkatan frekuensi terjadi karena vibrasi ulur antara atom hidrogen dengan atom yang lain sehingga mengakibatkan melebarnya puncak dan pergeseran ke arah bilangan gelombang yang lebih pendek (Gozali *et al.*, 2012).



Gambar 2. Puncak kristalisasi hasil uji XRD dari glibenklamida murni (a), *cocrystal* glibenklamida yang dibuat dengan pelarut aceton (b), *cocrystal* glibenklamida yang dibuat dengan pelarut etanol (c), *cocrystal* glibenklamida yang dibuat dengan pelarut campuran acetonitril dan aceton (d).

Hasil analisis FTIR pada Gambar 3 menunjukkan pola spektrum yang sama di wilayah sidik jari di daerah 1600 yaitu peningkatan intensitas dari N-H dari puncak pelebaran pada 3300 cm^{-1} hal ini terkait dengan kemungkinan pembentukan ikatan hidrogen dalam produk penguapan pelarut glibenklamida asam oksalat. Beberapa frekuensi getaran yang sesuai dengan gugus amina digeser ke bilangan gelombang yang lebih tinggi dapat diasumsikan terhadap perubahan ikatan hidrogen (Filho *et al.*, 2018). Dengan demikian, jelas bahwa hanya atom

hidrogen dalam gugus amina yang terlibat dalam ikatan hidrogen yang mengarah pada pembentukan *cocrystal* glibenklamida.

Tabel 2. Puncak spektrum FTIR pada gugus N-H, gugus C-H, gugus C=O dan gugus C=C dari glibenklamida dan *cocrystal*.

Active Pharmaceutical Ingredient (API)	N-H	C-H	C=O	C=C
	Peak	Peak	Peak	Peak
Glibenklamida murni (a)	3380,40	2900,10	1652,10	1437,99
<i>Cocrystal</i> GLB-Aceton (b)	3398,72	2899,13	1636,67	1435,10
<i>Cocrystal</i> GLB-Etanol (c)	3381,36	2889,13	1665,60	1433,17
<i>Cocrystal</i> GLB-Acetonitril aceton (d)	3404,51	2899,13	1637,64	1437,99

3.1.4. Analisis thermal

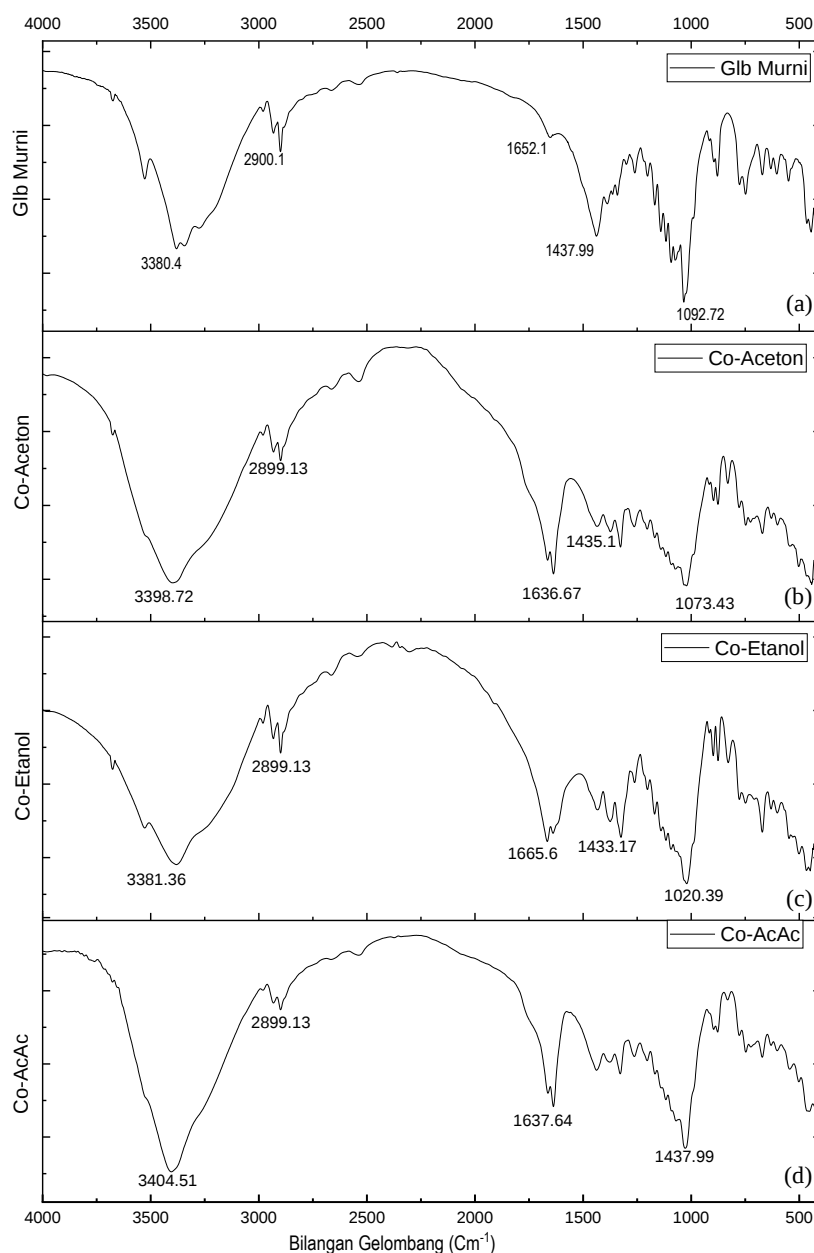
Sifat termal bahan aktif farmasi dan terbentuknya interaksi fisik antara dua material dapat ditentukan dengan menggunakan teknik analisis termal berdasarkan perubahan titik leleh bahan, dibandingkan dengan campuran fisiknya memungkinkan dapat mengetahui dengan cepat pembentukan *cocrystal* (Garbacz & Wesolowski, 2018).

Tabel 3. Termogram Differential Thermal Analysis (DTA) dan *Differential Scanning Calorimetry* (DSC) dari glibenklamida dan *cocrystal*.

Active Pharmaceutical Ingredient (API)	Suhu °C			$\Delta H / J g^{-1}$
	T Onset	T Puncak	T Offset	
Glibenklamida murni (a)	139,0	147,8	159,6	-38,0044 J/g
<i>Cocrystal</i> GLB-Aceton (b)	147,4	157,6	169,9	-12,14874 J/g
<i>Cocrystal</i> GLB-Etanol (c)	141,2	153,4	167,5	-38,8612 J/g
<i>Cocrystal</i> GLB-Acetonitril aceton (d)	151,2	158,1	166,9	-5,8400 J/g

Karakteristik termal terhadap sifat fisik yaitu penguraian glibenklamida dan *cocrystal* menjadi unsur-unsurnya dapat dilihat pada besarnya entalpi (ΔH) seperti pada Tabel 3, berdasarkan *Differential Scanning Calorimetry* (DSC). DSC merupakan suatu metode untuk menentukan temperatur dari perubahan material dengan mengukur kalor yang dihasilkan (Tomoda *et al.*, 2020). Hukum Laplace yaitu suatu senyawa yang terbentuk dari suatu proses akan memerlukan atau membebaskan kalor sama pada saat senyawa tersebut terurai menjadi unsur-unsurnya. Perubahan kalor yang terjadi selama proses penerimaan atau pelepasan kalor dinyatakan dengan *perubahan entalpi* (ΔH). Penguraian senyawa menjadi unsur-unsurnya diperlukan energi, untuk memutuskan ikatan atom-atom pada suatu senyawa yang dapat ditentukan dari data entalpi. Entalpi penguraian diberi simbol (ΔH^0_d) simbol d berasal dari kata *decomposition* yang berarti penguraian. Entalpi (H) suatu zat ditentukan oleh jumlah energi dan semua bentuk energi yang dimiliki zat (Attia *et al.*, 2013).

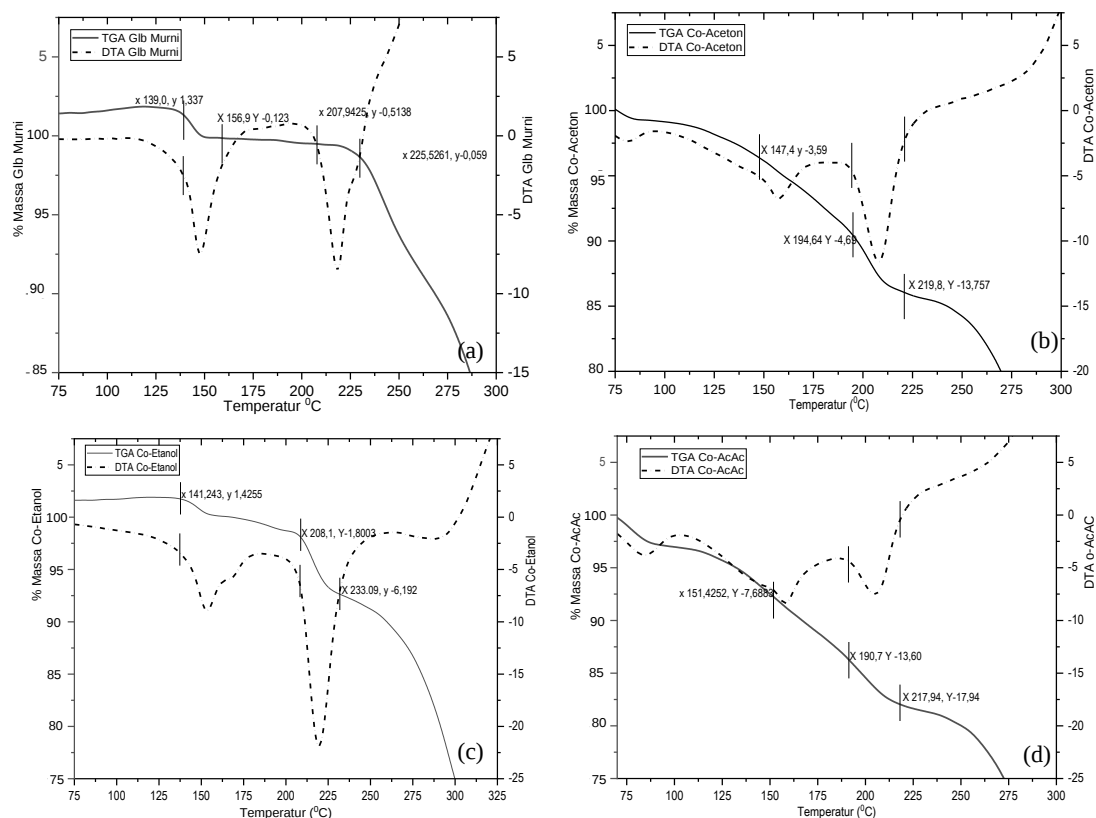
Cocrystal yang dibuat dengan pelarut aceton, etanol dan pelarut campuran acetonitril aceton seperti dalam Gambar 4, menunjukkan hasil karakterisasi termal bahwa glibenklamida murni menunjukkan titik lebur yang lebih rendah di dibandingkan dengan *cocrystal* glibenklamida. Termogram dari glibenklamida murni menunjukkan titik leleh pada suhu 139,0-159⁰C, sedangkan pada *cocrystal* menunjukkan titik leleh pada suhu 141-169,9⁰C.



Gambar 3. Spektrum FTIR pada daerah sidik jari 1600 yaitu peningkatan intensitas dari N-H, dan puncak pelebaran pada 3300 cm^{-1} dari glibenklamida murni (a), *cocrystal* glibenklamida yang dibuat dengan pelarut aceton (b), *cocrystal* glibenklamida yang dibuat dengan pelarut etanol (c), *cocrystal* glibenklamida yang dibuat dengan pelarut campuran acetonitril dan aceton (d).

Glibenklamida murni pada gambar 4a, fase endotermik di mulai pada suhu 139,0⁰C dan T offsetnya pada suhu 159,6⁰C, puncak endotermik terjadi pada suhu 147,8⁰C. *Cocrystal* glibenklamida yang terbentuk dengan pelarut aceton, etanol dan campuran acetonitril aceton

mengalami puncak endotermik pada suhu 153,4-158,1⁰C. Dalam fase endotermik ini terkait dengan pencairan zat karena proses penguapan dan dekomposisi yang dipengaruhi oleh susunan molekul dalam kisi kristal, simetri molekul, derajat konformasi kebebasan molekul dan interaksi antar molekul (Oliveira *et al.*, 2005)



Gambar 4. Termogram DTA dan TGA sebagai proses dekomposisi dari glibenklamida murni (a), *cocrystal* glibenklamida yang dibuat dengan pelarut acetone (b), *cocrystal* glibenklamida yang dibuat dengan pelarut etanol (c), dan *cocrystal* glibenklamida yang dibuat dengan pelarut campuran acetonitril dan acetone (d).

Termogram glibenklamida dan *cocrystal* glibenklamida memiliki perbedaan pada T_{onset} , T_{puncak} dan T_{offset} yang menunjukkan bahwa terjadi interaksi antara glibenklamida, *cocrystal* asam oksalat dan pelarut yang digunakan yaitu acetone, etanol dan campuran acetonitril acetone. Studi termal telah mengamati bahwa kristalisasi tergantung pada pelarut yang digunakan, dapat menghasilkan dan menunjukkan kelarutan dan suhu leleh yang berbeda (Filho *et al.*, 2018). Interaksi molekul glibenklamida yang mengandung dua gugus aromatik, 1 akseptor ikatan hidrogen dan 2 donor ikatan hidrogen dengan asam oksalat melalui satu ikatan hidrogen ($E_i = -1,6$ kkal/ mol) (Budiman *et al.*, 2016).

3.2. Uji kelarutan

Pelarut dalam proses pembuatan *cocrystal* berpengaruh terhadap kenaikan kelarutan glibenklamida. Kelarutan *cocrystal* seperti dalam Tabel 4, *cocrystal* yang dibuat dengan pelarut acetone mengalami kenaikan kelarutan 1 sampai 4 kali, dimana pada medium pH 4,5 memiliki

kelarutan yang paling tinggi yaitu 12,65%. Kelarutan *cocrystal* yang dibuat dengan pelarut etanol meningkat menjadi 1 sampai 3 kali dibandingkan glibenklamida murni. Untuk *cocrystal* yang dibuat dengan pelarut acetonitril-aceton terjadi peningkatan kelarutan 4 kali dibandingkan dengan glibenklamida murni. Penggunaan pelarut dalam proses *cocrystalisasi* didasarkan pada kemampuan pelarut sebagai katalis dalam meningkatkan kecepatan pelarutan komponen kristal multikomponen (Douroumis *et al.*, 2017).

Tabel 4. Kelarutan glibenklamida murni dan *cocrystal* glibenklamida dalam buffer fosfat pH 1,2; pH 4,5 dan pH 6,8.

Active Pharmaceutical Ingredient (API)	Konsentrasi % kelarutan dalam dapat fosfat		
	pH 1,2	pH 4,5	pH 6,8
Glibenklamida murni (a)	4,41	2.38	1.41
<i>Cocrystal</i> GLB-Aceton (b)	6,74	12.65	12.24
<i>Cocrystal</i> GLB-Etanol (c)	7,40	4.73	12.52
<i>Cocrystal</i> GLB-Acetonitril aceton (d)	5,46	9.45	10.75

Pelarut yang dipilih harus sesuai, jika salah satu komponen tidak menunjukkan kelarutan dalam pelarutnya, kristal yang diperoleh akan menyusut dan kemudian menghilang dengan pergeseran dari kelarutan. Glibenklamida memiliki kelompok donor dan akseptor hidrogen yang mendorong pembentukan ikatan hidrogen antara molekul glibenklamida dengan molekul pelarut. Kekuatan pelarut dan interaksi pelarut dapat dicirikan oleh kepadatan energi kohesif (ϵ). Peningkatan kelarutan dapat dipengaruhi oleh kecenderungan akseptor ikatan hidrogen yang relatif lebih tinggi, kerapatan energi kohesif yang lebih rendah, dan hambatan sterik kecil. Kerapatan energi kohesif pelarut yang digunakan pada aceton 326.07 J mol/L/mL, etanol 618.87 J mol/L/mL, dan acetonitril 522.95 J mol/L/mL. Kecenderungan akseptor ikatan hidrogen aceton 0.49, etanol 0.48, acetonitril 0.32, semakin kuat interaksi antara pelarut dan semakin lemah interaksi zat terlarut dengan pelarut, maka proses pelarutan zat terlarut akan lebih sulit. Aseton dan etanol memiliki kecenderungan sebagai akseptor ikatan hidrogen yang relatif lebih tinggi, memiliki kerapatan energi kohesif yang lebih rendah, dan hambatan sterik kecil sehingga dapat meningkatkan kelarutan dalam proses pembentukan *cocrystal*. Pelarut campuran asetonitril aseton yang digunakan dalam proses *cocrystal* glibenklamida mengikuti prinsip peningkatan entropi dengan meningkatnya fraksi mol aseton (Zhao *et al.*, 2019).

Thakuria *et al.*, (2012), mekanisme peningkatan kelarutan dari *cocrystal* ditentukan oleh dua faktor bebas yaitu kekuatan kisi kristal dan solvasi komponen *cocrystal*. Untuk meningkatkan kelarutan dapat dengan menurunkan energi kisi dan atau meningkatkan afinitas pelarut. *Cocrystal* memiliki kemampuan untuk mempengaruhi kedua faktor tersebut. Kisi

mengontrol kelarutan dalam pelarut dimana ada resistensi kecil untuk solvasi, atau ketika interaksi pelarut-terlarut cocok dengan interaksi pelarut-pelarut, seperti dalam larutan ideal. Solvasi juga memainkan peranan yang menentukan kelarutan dalam air dari *cocrystal* yang menghasilkan *hidrofobisitas* obat.

4. Kesimpulan

Glibenklamida dan *coformer* asam oksalat dapat membentuk *cocrystal* dengan pelarut acetone, etanol dan pelarut acetonitril-acetone dengan morfologi terbentuknya perubahan porus atau rongga pada serbuk *cocrystal*. Pola difraktogram pada *cocrystal* terjadi penambahan puncak difraktogram kisi kristal yang menunjukkan terbentuknya fasa kristal baru. *Cocrystal* yang dibuat dengan pelarut acetone memiliki intensitas kristalisasi yang paling tinggi pada sudut 2θ 19,9722 dengan intensitas 5230,55. Identifikasi gugus fungsi *cocrystal* glibenklamida dengan *coformer* asam oksalat terdapat perubahan pada frekuensi vibrasi gugus fungsi yaitu pergeseran regangan N-H, CH dan peregangan OH terkait dengan pembentukan ikatan hidrogen. Karakteristik *thermal* menunjukkan adanya perubahan endotermik titik leleh pada suhu 141-169,9°C, dan terjadinya perbedaan T_{onset} , T_{puncak} dan T_{offset} . *Cocrystal* glibenklamida menunjukkan peningkatan kelarutan dari glibenklamida murni. *Cocrystal* yang dibuat dengan pelarut acetone mempunyai peningkatan kelarutan yang paling tinggi sebesar 12,65 % pada medium pelarut dapar pH 4,5.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta atas fasilitas yang sudah diberikan.

Deklarasi Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

Daftar Pustaka

- Aanisah, N., Wardhana, Y. W., dan Chaerunisa, A. Y. (2022). Modifications and Pharmaceutical Applications of Glucosamine as Novel Pharmaceutical Excipient in Indonesia: Review Article. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 7(2), 189. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v7i2.56076>
- Ainurofiq, A., dan Azizah, N. (2016). Perbandingan Penggunaan Bahan Penghancur Secara Intragranular, Ekstragranular, Dan Kombinasinya. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 01(01), 1–9. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v1i1.682>
- Attia, A. K., Mohamed Ibrahim, M., dan Nabi El-Ries, M. A. (2013). Thermal analysis of some antidiabetic pharmaceutical compounds. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 3(2), 419–424. <https://doi.org/10.5681/apb.2013.067>
- Berry, D. J., dan Steed, J. W. (2017). Pharmaceutical cocrystals, salts and multicomponent systems; intermolecular interactions and property based design ☆. *Advanced Drug Delivery Reviews*. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.03.003>
- Budiman, A., Nurlatifah, E., dan Amin, S. (2016). Enhancement of Solubility and Dissolution Rate of Glibenclamide by Cocrystal Approach with Solvent Drop Grinding Method.

- International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*, 7(5), 248–250.
www.ijcpr.com
- Dachriyanus. (2004). *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas.
- Domingos, S., André, V., Quaresma, S., Martins, I. C. B., Minas Da Piedade, M. F., dan Duarte, M. T. (2015). New forms of old drugs: Improving without changing. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 67(6), 830–846. <https://doi.org/10.1111/jphp.12384>
- Douroumis, D., Ross, S. A., dan Nokhodchi, A. (2017). Advanced methodologies for cocrystal synthesis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 117, 178–195.
- Filho S., S. F., Pereira, A. C., Sarraguça, J. M. G., Sarraguça, M. C., Lopes, J., Façanha Filho, P. de F., dos Santos, A. O., dan da Silva Ribeiro, P. R. (2018). Synthesis of a Glibenclamide Cocrystal: Full Spectroscopic and Thermal Characterization. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 107(6), 1597–1604.
- Garbacz, P., dan Wesolowski, M. (2018). DSC, FTIR and raman spectroscopy coupled with multivariate analysis in a study of co-crystals of pharmaceutical interest. *Molecules*, 23(9). <https://doi.org/10.3390/molecules23092136>
- Gozali, D., Bahti, H. H., dan Soewandhi, S. N. (2012). Pembentukan Kokristal Antara Kalsium Atorvastatin dengan Isonikotinamid dan Karakterisasinya. *Jurnal Sains Materi Indonesia, April*, 103–110.
- Gracesella, C., dan Sopyan, I. (2016). Ko-Kristal Di Bidang Farmasi : Review Jurnal. *Farmaka*, 14, 63–79.
- Karimi, M., Padrela, L., Walker, G. M., dan Croker, D. M. (2018). Creating cocrystals: A review of pharmaceutical cocrystal preparation routes and applications. *Crystal Growth and Design*, 18(10), 6370–6387. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.8b00933>
- Kemenkes RI, 2019. (2019). *Hari Diabetes Sedunia Tahun 2018*. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, 1–8. <http://www.pusdatin.kemendes.go.id/>
- Oliveira, G. G. G., Ferraz, H. G., dan Matos, J. S. R. (2005). Thermoanalytical Study Of Glibenclamide And Excipients. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 79(2005) 267–270.
- Permatasari, D., Ramadhani, S., Sopyan, I., dan Muchtaridi. (2013). Ko-kristal: teknik pembuatan ko-kristal. *Farmaka Volume 14 Nomor 4*, 14, 1–18.
- Reddy, B., dan Karunakar, A. (2011). Biopharmaceutics classification system: A regulatory approach. *Dissolution Technologies*, 18(1), 31–37. <https://doi.org/10.14227/dt180111p31>
- Thakuria, R., Delori, A., Jones, W., Lipert, M. P., Roy, L., & Rodríguez-Hornedo, N. (2013). Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 453(1), 101–125. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.10.043>
- Tomoda, B. T., Yassue-Cordeiro, P. H., Ernesto, J. V., Lopes, P. S., Péres, L. O., da Silva, C. F., dan de Moraes, M. A. (2020). Characterization of biopolymer membranes and films: Physicochemical, mechanical, barrier, and biological properties. *Biopolymer Membranes and Films*, 67–95. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818134-8.00003-1>
- Yu, L., Li, C., Le, Y., Chen, J. F., dan Zou, H. (2011). Stabilized amorphous glibenclamide nanoparticles by high-gravity technique. *Materials Chemistry and Physics*, 130(1–2), 361–366. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2011.06.049>
- Zhao, Y., Yang, H., Shang, Z., Gong, T., Zhang, X., dan Wu, S. (2019). Solubility Determination and Correlation of Glibenclamide in 11 Monosolvents and (Acetone + Acetonitrile) Binary Solvents from 283.15 K to 323.15 K. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 64(1)





Identification of Off-Label Drugs for Patients with Neurological Disorders at the Psychiatric Hospital “Ghrasia” Yogyakarta

Bangunawati Rahajeng^{1*}, Asih Ulandani² and Astrit Ikafitriani³

¹Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, School of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Jl. Brawijaya, Tamantirto, Kasihan, Bantul, Yogyakarta, Indonesia, 55183.

²Faculty of Medicine and Health Sciences, School of Pharmacy, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Jl. Brawijaya, Tamantirto, Kasihan, Bantul, Yogyakarta, Indonesia, 55183.

³Department of Pharmacy, Ghrasia Hospital, Jl. Kaliurang No.17, Duwetsari, Pakembinangun, Kec. Pakem, Kabupaten Sleman, Yogyakarta Special Region, Indonesia, 55582.

*email correspondence : bangunawati.r@umy.ac.id

Received 02 April 2022, Accepted 18 October 2022, Published 15 November 2022

Abstract: Off-label drug use is the prescription of drugs outside the indications approved by the authorized agency. The reasons for off-label drug use include a lack of clinical response to previous treatments, intolerance, or contraindications to drug therapy. The scientific evidence of off-label prescribing was lacking, and the risk of adverse events increased. This study aims to identify the off-label drug use for patients with neurological disorders at the Psychiatric Hospital “Ghrasia” Yogyakarta. This study used a descriptive observational design with a cross-sectional method. Data collection was conducted retrospectively. Sampling was carried out by using the purposive sampling technique. The sample was patients who received a psychotropic prescription at the Psychiatric Hospital “Ghrasia” Yogyakarta in January-December 2019. The data were analyzed by scrutinizing the therapeutic goals according to the diagnosis on the medical record. Prescriptions not matching the indications registered by NADFC are included in the off-label category. We used descriptive analytics for demographic data, disease diagnosis, and frequency of the off-label use of drug in neurological disorders. The research obtained a total sample of 662 patients that met the inclusion criteria, with 2,823 psychiatric drugs used. The off-label use of drug in neurological disorders at the Psychiatric Hospital “Ghrasia” Yogyakarta was 884 (31%). The most frequent off-label use was lorazepam (17.53%). This study concludes that there is an off-label prescription at the Psychiatric Hospital “Ghrasia” Yogyakarta. Some of the off-label use has no solid scientific evidence. These results require further research regarding the reasons for off-label prescribing and the patient's safety.

Keywords: NADFC; neurological disorders; off-label; The Psychiatric Hospital “Ghrasia” Yogyakarta

1. Introduction

An off-label drug is the use of drugs outside the indication approved by the authorized agency. It includes off-label dose, off-label age, off-label administration procedure, and off-label indications (Le Jeune *et al.*, 2013; Wittich *et al.*, 2012). According to the Ministry of Health of the Republic of Indonesia 2018, off-label drugs define as using drugs outside the indications approved by the authorized agency, for instance, the Food and Drug Administration (FDA), the official agency in the United States. Meanwhile, Indonesia has the National Agency for Drug and Food Control of the Republic of Indonesia (NADFC) (Rusli, 2018).

Research in Brazil stated that, out of 1,054 prescriptions given to 73 patients, 23.4% of the off-label drug, 12.6% of the non-licensed drug, and 1.4% of both (off-label and non-licensed) were found (Ferreira *et al.*, 2012). In addition, research conducted by Rahajeng *et al.* in 2018 regarding using off-label anticonvulsants in a private hospital in Indonesia revealed 35.11%. The highest frequency was in the treatment of neurological and psyche disorders. As many as 97.19% of the off-label use of anticonvulsants has no clinical evidence (Rahajeng *et al.*, 2018).

Using off-label drugs has a higher adverse drug event (ADE) than on-label drugs. It is in line with research conducted by Egualé *et al.*, (2016), stating that 3,484 ADE was found in 46,021 patients, with a 13.2% incidence per 10,000 people per month. ADE level for off-label use (19.7% per 10,000 people per month) is higher than of on-label use (12.5% per 10,000 people per month) (Egualé *et al.*, 2016). However, many physicians still prescribe off-label drugs to the patient. Psychotropic is one of the off-label drugs most frequently prescribed. A study from Canada has found that 36.2% of prescriptions for psychotropic medication are off-label. Anxiolytic or hypnotic drugs are the most commonly used psychotropic drugs for off-label purposes (Brown *et al.*, 2018).

Psychotropic drugs are the front line for the management of mental illness. According to research conducted by Lesli & Rosenheck (2012), it is stated that the use of off-label drugs is common, especially among the elderly and children or adolescents. In practice, the administration of off-label drugs in elderly patients is frequently used in off-label indications. One of them is the prescription of off-label psychotropics carried out by more than 50% of psychiatrists treating schizophrenia. On the other hand, scientific evidence of the off-label use of psychotropics was lacking. Despite that, the adverse effects of psychotropics were high, which can affect patient adherence. Noncompliance therapy can interfere treatment of mental illness. (Leslie & Rosenheck, 2012; Lucca *et al.*, 2019). Therefore, this research aims to identify the amount of off-label drug used in neurological disorders, especially in the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta. The results of this study are expected to be a database for off-label drug use in neurological disorders, allowing the prevention of adverse drug events can be carried out.

The difference between this research and similar research is the difference in the data analysis method (descriptive) and the research place. This research is still relevant to be carried out in Indonesia because there are still little data on the use of off-label drugs use in neurological disorders.

2. Material and Methods

2.1. Ethical approval

This study was approved by Health Research Ethics Committee of the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta with Ethical Approval number: .37/EC-KEPKRSJG/IV/2020

2.2. Data collection

This study is descriptive observational research using a cross-sectional design. The data collection of prescribed off-label drugs was carried out retrospectively. This research was conducted at the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta using one-year medical record data from January to December 2019. The medical record used in this study was the medical record of patients with neurological disorders who received drug prescriptions that act on the nervous system. The data collection was conducted from July to October 2020. The inclusion criteria included patients who received a prescription for drugs that act in the nervous system from January to December 2019. We collected data from the medical record about the patient's demographics (age, gender, occupation), disease diagnosis, drugs used (including past medical history), and symptoms.

The sample used was taken by the purposive sampling method. The minimal sample calculation formula (Slovin) used in Equality 1.

$$n = N / (1 + N.(e)^2)$$

$$n = \frac{1632}{1+(1632 \times (0,05)^2)} = 321,259$$

Equality 1. The minimal sample calculation formula (Slovin) at the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta using one-year medical record data from January to December 2019. Description: n = number of samples, N = total population, E = limit error.

Sampling using a purposive sampling method. The samples obtained were 662 patients who met the inclusion criteria. This number of samples exceeds the minimum number of samples required according to the calculation.

2.3. Data analysis

Identifying off-label prescribing patterns refers to the National Drug Information Center (PIO Nas). Prescriptions not matching the indications registered by NADFC are included in the off-label category. We used descriptive analytics for demographic data, disease diagnosis, and frequency of the off-label use of drug in neurological disorders. We present the result in percentage form.

3. Results and Discussion

This study was carried out by 662 patients who met the inclusion criteria. Patient characteristics data can be seen in Table 1. Patients' age in this study was grouped based on the

Republic of Indonesia government law number 36 (2009) on health (Pemerintah Pusat, 2009). The highest age category is dominated by productive age (26-35 years old) with an average of 38.74 ± 15.55 . Based on table 1, male patients are higher than female patients. Most of the patients in this study were unemployed (49.09%).

Table 1. Characteristics of patients who received prescription drugs that act on the neurological system at the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta.

No	Characteristic	Total (n)	Percentage (%)
1	Gender		
	Male	366	55,29
	Female	296	44,71
2	Age (years)		
	0 – 5	2	0,30
	5 – 11	3	0,45
	12 – 16	10	1,51
	17 – 25	146	22,05
	26 – 35	168	25,38
	36 – 45	106	16,01
	46 – 55	114	17,22
	56 – 65	73	11,03
	>65	40	6,04
3	Occupation		
	Unemployed	325	49,09
	Private employee	93	14,05
	Students	87	13,14
	Entrepreneur	45	6,80
	Labor	44	6,65
	Farmer	42	6,34
	Retired	11	1,66
	Civil Servant	9	1,36
	Police / pensioner	3	0,45
	Teacher	2	0,30
	Housewife	1	0,15
Total		662	100

In January-December 2019, this study revealed that patients receiving medication for neurological disorders were dominated by male patients (55.29%). It occurred since the patients at the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta was treated with a diagnosis of schizophrenia. Schizophrenia occurred 1.4 times more frequently in men than women and, in particular, appears earlier in men (Picchioni & Murray, 2007).

This study showed that patients receiving medication for neurological disorders were mainly 26-35 years old (25.38%). As this age range is categorized as productive age with much-precipitating stress and a considerable burden of responsibility. These factors included problems with family and colleagues, heavy workload, and economic issues that could later affect emotional development (Yulianty et al., 2017).

Furthermore, the data showed that most of the patients were unemployed. Unemployment can lead to several adverse effects such as stress, depression, and mental weaknesses; thus, they are likely to feel unempowered and pessimistic about the future. It becomes the risk factor for people to experience a mental disorder such as schizophrenia. The results of this study are also in line with the research of Darsana and Suariyani at the Psychiatric Hospital in Bali, which found that most of the patients were men of productive age (26-46 years) and unemployed (Darsana & Suariyani, 2020; Semiun, 2006).

As many as 2.823 psychiatric drugs were given to 662 patients at the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta with various diagnoses. The diagnosis for patients who received psychiatric drug prescriptions is presented in Table 2. Table 2 shows 16 diagnoses experienced by patients who receive a psychiatric drug. The most common disease diagnosis was schizophrenia (35.5%).

Table 2. The diagnosis of patients who received psychotropics prescriptions at the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta

No	Patient's Diagnosis	Total	Percentage (%)
1	Schizophrenia	235	35,50
2	Depression	89	13,44
3	Bipolar	51	7,70
4	Acute psychotic disorder	49	7,40
5	Schizoaffective	47	7,10
6	Mental illness due to psychoactive	44	6,65
7	Anxiety	40	6,04
8	Other mental disorders due to brain dysfunction and physical illness	26	3,93
9	Mental retardation	21	3,17
10	Dementia	18	2,72
11	Mental disorder due to sedative-hypnotic	15	2,27
12	Obsessive Compulsive Disorder	7	1,06
13	Insomnia	7	1,06
14	Alzheimer	6	0,91
15	Mental disorders due to other stimulants, including caffeine	5	0,76
16	Stress	2	0,30
Total		662	100

The drugs prescribed for patients at the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta included 30 types of psychiatric medication. The category of drugs can be seen in Figure 1. Classification of drug category is intended to identify the prescription that was most frequently off-label drug used from January to December 2019 at the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta.

Based on Figure 1, the use of atypical antipsychotics is 28.52 %. Based on the research results, drugs included in the atypical antipsychotic category were most often prescribed by

physicians in the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta Yogyakarta. The drugs included clozapine, olanzapine, risperidone, aripiprazole, and quetiapine. This data follows the data on the diagnosis of most patients, namely schizophrenia. The first choice of therapy for schizophrenia is antipsychotics (Hariyanto *et al.*, 2016; McDonagh *et al.*, 2017).

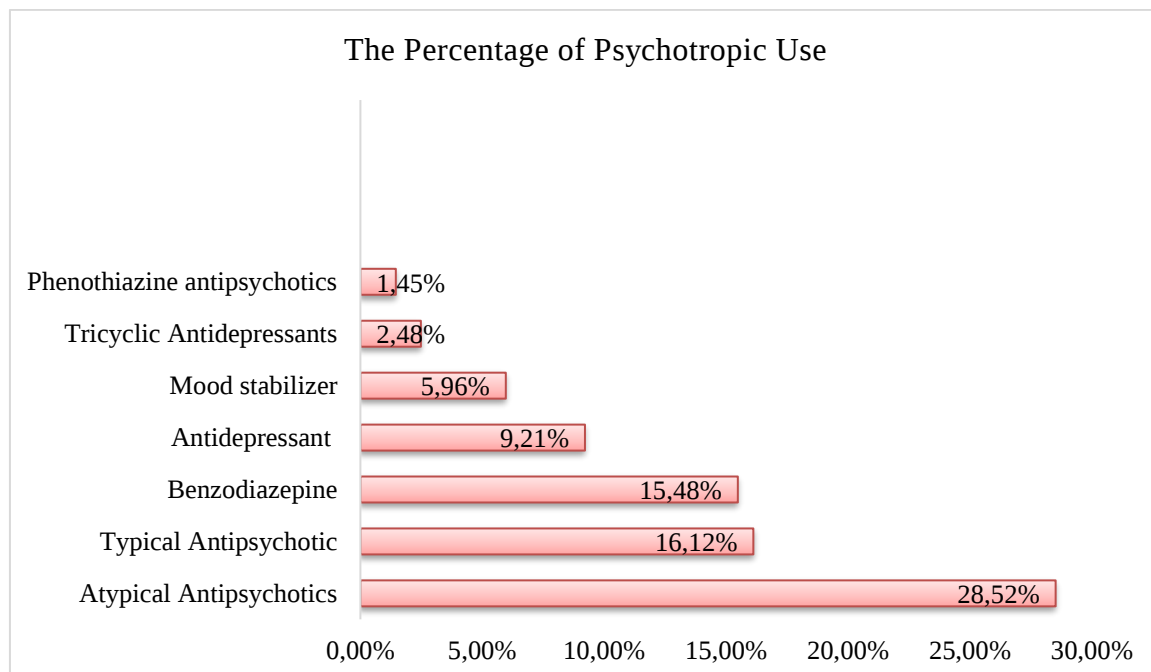


Figure 1. The psychiatric medication use is based on drug category at the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta.

3.1. The off-label drug use in patients with the neurological disorder

Based on the 662 patients’ medical records data at the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta, there were 2.823 drug prescribed to patients with neurological disorders. In addition, 884 medications were used off-label (31 %), and 1.939 (69 %) were used the on-label. One prescription may consist of more than one off-label use of the drug. The off-label psychiatric drug used is present in Table 3.

There were 884 off-label psychiatric drug of which the prescription was for 18 diagnoses, as shown in Table 4. The off-label drug used in the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta for neurological disorders is primarily used for schizophrenia, followed by depression and bipolar. The most frequently used off-label psychiatric is lorazepam. The following is a description of 4 types of off-label drug use that are most frequently used at the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta:

3.1.1. Lorazepam

Lorazepam is the drug most prescribed off-label in the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta. It is a drug categorized into benzodiazepines. According to NADFC (2015), known as BPOM in Indonesia, Lorazepam is indicated for the short-term treatment of anxiety and

insomnia. The off-label lorazepam at the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta was used to treat depression (30,97%), schizophrenia (30.32 %), a mental disorder due to psychoactive substances (9,68 %), dementia (8,39 %), psychotic disorders (8,39 %), bipolar (5.81 %), schizoaffective disorder (3.22 %), severe stress (1,29 %), mental retardation (1,29 %), and OCD (0.64 %).

Table 3. The Use of Off-Label Psychiatric drug at the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta.

No	Drug Name	Total (N)	Percentage (%)
1	Lorazepam	155	17,53
2	Fluoxetine	106	11,99
3	Clozapine	90	10,18
4	Risperidone	74	8,37
5	Diazepam	72	8,14
6	Na-valproate	56	6,33
7	Clobazam	54	6,11
8	Diazepam Injection	40	4,52
9	Haloperidol Injection	35	3,96
10	Haloperidol	27	3,05
11	Alprazolam	23	2,60
12	Escitalopram	21	2,38
13	Amitriptyline	19	2,15
14	Maprotiline	19	2,15
15	Aripiprazole	13	1,47
16	Quetiapine	13	1,47
17	Fluphenazine Injection	12	1,36
18	Sertraline	11	1,24
19	Trihexyphenidyl (THP)	9	1,02
20	Zolpidem	6	0,68
21	Trifluoperazine (TFP)	5	0,57
22	Methylphenidate hydrochloride	5	0,57
23	Sulpiride	4	0,45
24	Phenytoin	3	0,34
25	Donepezil	3	0,34
26	Buspirone	3	0,34
27	Olanzapine	2	0,23
28	Phenobarbital	2	0,23
29	Chlorpromazine	1	0,11
30	Diazepam + Metamizole	1	0,11
Total		884	100

The mechanism of lorazepam has been identified for the past years. Lorazepam has a mechanism that inhibits Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) in the central nerve and specifically binds to the post-synapse receptor. As a result, it produces sedation, sleep, and muscle relaxation. A study conducted by Brand *et al.*, (2016) showed that although the effect

is still far below the combination therapy between lorazepam and a sleep hygiene program, the use of lorazepam is proven to reduce sleep disturbances and depression. However, clinicians should consider the drug dependence on lorazepam (Brand *et al.*, 2016).

In schizophrenia, lorazepam is commonly used both as a single-use and in combination with antipsychotics, especially to treat symptoms of catatonia. Chin-Chuen Lin and Tiao-Lai Huang found that the lorazepam-diazepam combination can reduce the symptoms of catatonia. Another study stated that there was no significant difference between haloperidol-lorazepam and olanzapine (Huang *et al.*, 2015; Lin & Huang, 2013). Due to its ability to reduce symptoms of catatonia, lorazepam is frequently prescribed to patients with depression (Hung & Huang, 2006). Meanwhile, for dementia, lorazepam has been used for a long time, especially for dementia associated with agitation. Mario Amore *et al.* have conducted a systematic review on using lorazepam for agitation. It has been included in the algorithm treatment of agitation in Alzheimer's disease and dementia (Amore *et al.*, 2021; Davies *et al.*, 2018; Defrancesco *et al.*, 2015).

3.1.2. Fluoxetine

The physicians prescribed fluoxetine for off-label use at the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta to 106 patients (8.60%). Fluoxetine is an antidepressant drug categorized as SSRI. The official registration of fluoxetine is to treat moderate to severe depression. Fluoxetine works by inhibiting 5-HT from pre-sympathetic neurons. It leads to stable serotonin concentration, later improving mood and re-cultivating one's interest in the regular activity (Santarsieri & Schwartz, 2015).

The off-label use of fluoxetine at the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta was used to treat schizophrenia (42.5%), anxiety (18.9%), mental disorders due to psychoactive substances (9.4%), insomnia (8.5%), bipolar (7.5%), mental disorders due to other stimulants, including caffeine (3.8%), schizoaffective disorder (3.8%), other mental disorders due to brain dysfunction or physical illness (2.8%), dementia (1.9%) and mental retardation (0.9%). Due to the mechanism of the antidepressant SSRI, it can maintain serotonin levels by preventing its absorption, thus giving a sense of happiness and psychological relaxation.

In this study, the off-label use of fluoxetine was most widely used to cope with schizophrenia (42.5%). A systematic review by Kylie J. Thaler *et al.*, (2012) showed that the second generation of antipsychotics, such as fluoxetine for anxiety, insomnia, and pain, still had moderate to low evidence (Thaler *et al.*, 2012).

Table 4. The diagnosis of *off-label* Psychotropics at the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta was given to more than five patients.

Drug	A total patient	Bipolar	OCD	Schizophrenia	Acute psychotic disorder	Dementia	Depression	Anxiety	Mental illness due to psychoactive	Insomnia due to stimulant	Other mental disorders due to brain dysfunction and physical illness	Schizoaffective	Severe Stress	Mental Retardation	Mental disorders due to other stimulants, including caffeine	Mental illness due to sedative-hypnotic	Alzheimer	Insomnia	Disorders due to multiple drugs
Lorazepam	155	9	1	47	13	13	48	0	15	0	0	5	2	2	0	0	0	0	0
Fluoxetine	106	8	0	45	0	2	0	20	10	9	3	4	0	1	4	0	0	0	0
Clozapine	90	21	0	0	0	3	22	17	6	0	7	0	0	10	0	4	0	0	0
Risperidone	74	22	1	0	0	0	9	15	4	0	7	0	0	10	0	0	5	1	0
Diazepam	72	4	0	28	6	1	13	2	0	0	3	6	0	9	0	0	0	0	0
Haloperidol	62	17	0	0	2	12	12	0	0	0	18	0	0	0	0	0	0	1	0
Valproic Er Acid	56	3	0	21	6	0	6	2	0	0	3	2	2	3	1	3	0	0	4
Clobazam	54	13	0	2	3	2	22	0	0	0	1	1	2	1	0	2	0	1	4
inj. Diazepam	40	16	0	2	10	0	8	0	0	0	0	0	0	3	0	1	0	0	0
Alprazolam	23	4	1	0	0	0	1	2	0	0	1	2	0	0	0	8	0	0	4
Escitalopram	21	2	0	3	1	0	0	4	0	0	1	1	0	0	1	8	0	0	0
Amitriptyline	19	1	0	7	0	0	0	4	0	0	0	3	0	0	0	1	0	0	3
Maprotiline	19	1	0	9	3	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	3
Aripiprazole	13	4	0	0	3	0	3	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0
Quetiapine	13	1	0	6	3	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
inj. Fluphenazine	12	0	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
sertraline	11	5	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1
THP	9	2	1	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
zolpidem	6	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Total of	855	133	4	184	50	34	149	72	35	9	45	27	6	41	7	30	5	3	21
Percentage (%)	100	15,56	0,47	21,52	5,85	3,98	17,43	8,42	4,09	1,05	5,26	3,16	0,70	4,80	0,82	3,51	0,58	0,35	2,46

3.1.3. Clozapine

Clozapine is a drug often prescribed by physicians in the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta. The percentage of the use of off-label clozapine is 7,31 %. It is categorized as an atypical antipsychotic, indicating the treatment of schizophrenia. Clozapine has a mechanism to affects neurotransmitters in the brain, especially dopamine. It can reduce dopamine levels; thus, it affects the levels of neurotransmitters such as serotonin, noradrenaline, and acetylcholine, which balance the levels of each substance. In addition, it can prevent a change in behavior, emotions, and feelings and influence brain control. The circulation permit of the clozapine issued by NADFC is for schizophrenia (including psychosis in Parkinson's) in patients who do not respond or are intolerant to conventional antipsychotic drugs (Aronson, 2015; PIO Nas, 2021).

The off-label clozapine at the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta aimed for the treatment of depression (24.4%), bipolar (23.3%), anxiety (18.9%), mental retardation (10.0 %), mental disorders due to brain dysfunction or physical illness (7.8%), mental disorders due to psychoactive substances (6.7%), dementia (3.3%), mental disorders due to the sedative-hypnotics (4.4%), and dissociative amnesia (1.1%). The off-label use of clozapine is due to the ability of clozapine to affect neurotransmitters in the brain, particularly dopamine. Can lower dopamine levels to prevent changes in behavior, emotions, and feelings, create a psychologically relaxing effect, and affect brain control.

A study by Camelia, (2016) showed that the use of clozapine as a therapy in bipolar patients was 60% higher than other drugs. It indicates that clozapine is one of the effective drugs in treating bipolar with low extrapyramidal side effects. A pharmacoepidemiologic study database conducted by Nielsen *et al.*, (2012) revealed that the use of clozapine for bipolar provides a significant result and a relevant reduction clinically to the patients' hospitality, psychiatrist visit, and psychotropics treatment without an increase in medical treatment (Camelia, 2016; Nielsen *et al.*, 2012).

3.1.4. Risperidone

Risperidone is an anticholinergic drug. Based on NADFC 2015, risperidone treats acute and chronic psychosis and mania. Based on this study's result, the use of off-label risperidone at Ghrasia Mental Hospital Yogyakarta reached 6.01%. Risperidone was used to treat bipolar (29.7%), anxiety (20.3%), mental retardation (13.5%), depression (12.2%), other mental disorders due to brain dysfunction or physical illness (9.5%), Alzheimer's (6.8%), mental disorders due to psychoactive substances (5.4%) and OCD (1.4%). It was used due to its working mechanism for the dopamine of two receptors that caused the patient a sense of

pleasure and tranquility. The highest off-label use of risperidone is to treat bipolar (29,7) since risperidone is the first line in treating acute mania of bipolar disorder (Menteri Kesehatan RI, 2015).

A systematic review by Pascal Sienaert *et al.*, (2013) revealed that level I evidence for the treatment strategy for resistant depression is still rare. Although the incidence rate is highly reported, the treatment strategies majorly remain based on an experiment. Therefore, the guidelines for clinical practice for bipolar are still primarily based on an extrapolation of evidence about augmentation strategies and unipolar major depression. A summary written by Effective Health Care (2007) using the systematic review method on more than 100 research publications denoted that risperidone effectively treats OCD and dementia in Alzheimer's with moderate evidence. Meanwhile, using off-label risperidone to treat mental retardation, anxiety, personality disorders, and depression does not show significant evidence (Shekelle *et al.*, 2007; Sienaert *et al.*, 2013).

4. Conclusion

Based on the study results, the conclusion was that the use of off-label drug use for neurological disorders at the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta was 31% of 2.823 medications. Furthermore, the drug category most widely used included the atypical psychotic, with a percentage of 28.52 %. In addition, the highest percentage of the use of off-label psychotropics was Lorazepam (17, 53%). Some of the off-label use of psychotropics has no strong scientific evidence. Because this study is retrospective, these results require further research regarding the reasons for off-label prescribing and the patient's safety.

Acknowledgment

The authors would like to thank the institute for research, publication, and community services Universitas Muhammadiyah Yogyakarta for funding this research (Number: 550/PEN-LP3M/II/2020), and the Psychiatric Hospital “Grhasia” Yogyakarta for permitting this research to be conducted.

Conflict of Interest

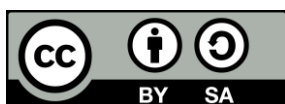
No conflict of interest

References

- Amore, M., D'Andrea, M., and Fagiolini, A. (2021). Treatment of Agitation With Lorazepam in Clinical Practice: A Systematic Review. *Frontiers in Psychiatry*, 12, 628965. <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2021.628965>
- Aronson, J. K. (2015). *Meyler's Side Effects of Drugs—16th Edition*. Elsevier Science.
- Brand, S., Rahimi, A., Ahmadpanah, M., Shamsaei, F., Cheraghi, F., Sadeghi Bahmani, D., and Holsboer-Trachsler, E. (2016). Effect of adjuvant sleep hygiene psychoeducation and lorazepam on depression and sleep quality in patients with major depressive disorders:

- Results from a randomized three-arm intervention. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 1507. <https://doi.org/10.2147/NDT.S110978>
- Brown, G. P., Stewart, L. A., Rabinowitz, T., Boudreau, H., and Wright, A. J. (2018). Approved and Off-Label Use of Prescribed Psychotropic Medications among Federal Canadian Inmates. *The Canadian Journal of Psychiatry*, 63(10), 683–691. <https://doi.org/10.1177/0706743718773734>
- Camelia, N. (2016). Analisis Drug Related Problems Penggunaan Antipsikotik Pada Penderita Gangguan Bipolar Di Rumah Sakit Jiwa “X” Surabaya. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 5(2), 15.
- Darsana, I. W., and Suariyani, N. L. P. (2020). Trend Karakteristik Demografi Pasien Skizofrenia Di Rumah Sakit Jiwa Provinsi Bali (2013-2018). *Archive Of Community Health*, 7(1), 41. <https://doi.org/10.24843/ACH.2020.v07.i01.p05>
- Davies, S. J., Burhan, A. M., Kim, D., Gerretsen, P., Graff-Guerrero, A., Woo, V. L., Kumar, S., Colman, S., Pollock, B. G., Mulsant, B. H., and Rajji, T. K. (2018). Sequential drug treatment algorithm for agitation and aggression in Alzheimer’s and mixed dementia. *Journal of Psychopharmacology*, 32(5), 509–523.
- Defrancesco, M., Marksteiner, J., Fleischhacker, W. W., and Blasko, I. (2015). Use of Benzodiazepines in Alzheimer’s Disease: A Systematic Review of Literature. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 18(10), pyv055.
- Egualé, T., Buckeridge, D. L., Verma, A., Winslade, N. E., Benedetti, A., Hanley, J. A., and Tamblyn, R. (2016). Association of Off-label Drug Use and Adverse Drug Events in an Adult Population. *JAMA Internal Medicine*, 176(1), 55.
- Ferreira, L. de A., Ibiapina, C. da C., Machado, M. G. P., and Fagundes, E. D. T. (2012). High prevalence of off-label and unlicensed drug prescribing in a Brazilian intensive care unit. *Revista Da Associação Médica Brasileira (English Edition)*, 58(1), 82–87. [https://doi.org/10.1016/S2255-4823\(12\)70159-5](https://doi.org/10.1016/S2255-4823(12)70159-5)
- Hariyanto, I., Putri, R. A., and Untari, E. K. (2016). Different Type of Antipsychotic Therapies on Length of Stay of Acute Schizophrenia Patients in Sungai Bangkong Regional Mental Hospital Pontianak. *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*, 5(2), 115–122. <https://doi.org/10.15416/ijcp.2016.5.2.115>
- Huang, C. L.-C., Hwang, T.-J., Chen, Y.-H., Huang, G.-H., Hsieh, M. H., Chen, H.-H., and Hwu, H.-G. (2015). Intramuscular olanzapine versus intramuscular haloperidol plus lorazepam for the treatment of acute schizophrenia with agitation: An open-label, randomized controlled trial. *Journal of the Formosan Medical Association*, 114(5), 438–445. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2015.01.018>
- Hung, Y.-Y., and Huang, T.-L. (2006). Lorazepam and Diazepam Rapidly Relieve Catatonic Features in Major Depression. *Clinical Neuropharmacology*, 29(3), 144–147. <https://doi.org/10.1097/01.WNF.0000221908.56361.C7>
- Le Jeunne, C., Billon, N., Dandon, A., participants of round table N° 3 of Giens XXVIII.; Berdaï, D., Adgibi, Y., Bergmann, J.-F., Bordet, R., Carpentier, A., Cohn, E., Courcier, S., Girault, D., Goni, S., Jolliet, P., Liard, F., Prot-Labarthe, S., Simon, T., Vernotte, C., and Westerloppe, J. (2013). Off-label Prescriptions: How to Identify Them, Frame Them, Announce Them and Monitor Them in Practice? *Thérapie*, 68(4), 233–239. <https://doi.org/10.2515/therapie/2013041>
- Leslie, D. L., and Rosenheck, R. (2012). Off-Label Use of Antipsychotic Medications in Medicaid. *The American Journal Of Managed Care*, 18(3), 9.
- Lin, C.-C., and Huang, T.-L. (2013). Lorazepam–diazepam protocol for catatonia in schizophrenia: A 21-case analysis. *Comprehensive Psychiatry*, 54(8), 1210–1214. <https://doi.org/10.1016/j.comppsy.2013.06.003>

- Lucca, J., Vamsi, A., Kurian, S., and Ebi, S. (2019). A prospective observational study on psychotropic drug use in non psychiatric wards. *Indian Journal of Psychiatry*, 61(5), 503. https://doi.org/10.4103/psychiatry.IndianJPsychiatry_28_18
- McDonagh, M. S., Dana, T., Selph, S., Devine, E. B., Cantor, A., Bougatsos, C., Blazina, I., Grusing, S., Fu, R., Kopelovich, S. L., Monroe-DeVita, M., and Haupt, D. W. (2017). *Treatments for Schizophrenia in Adults: A Systematic Review*. US : Agency for Healthcare Research and Quality. <https://doi.org/10.23970/AHRQEPCCER198>
- Nielsen, J., Kane, J. M., and Correll, C. U. (2012). Real-world effectiveness of clozapine in patients with bipolar disorder: Results from a 2-year mirror-image study: Clozapine for bipolar disorder. *Bipolar Disorders*, 14(8), 863–869. <https://doi.org/10.1111/bdi.12018>
- Pemerintah Pusat. (2009). Undang-undang Republik Indonesia nomor 36 tahun 2009 tentang Kesehatan. *Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor*, 144.
- Picchioni, M. M., & Murray, R. M. (2007). Schizophrenia. *BMJ*, 335(7610), 91–95. <https://doi.org/10.1136/bmj.39227.616447.BE>
- PIO Nas. (2021). Monografi Klopabin. Available from: <http://pionas.pom.go.id/monografi/klopabin> [Accessed 28nd April, 2021]
- Rahajeng, B., Ikawati, Z., Andayani, T. M., and Dwiprahasto, I. (2018). A Retrospective Study: The Off-Label Use Of Anticonvulsants At A Private Hospital In Indonesia. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 10(5), 119. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2018v10i5.25388>
- Menteri Kesehatan RI. (2015). *Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor HK.02.02/MENKES/73/2015*.
- Rusli. (2018). *Bahan Ajar Farmasi Klinik*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Santarsieri, D., and Schwartz, T. (2015). Antidepressant efficacy and side-effect burden: A quick guide for clinicians. *Drugs in Context*, 4, 1–12. <https://doi.org/10.7573/dic.212290>
- Semiun, Y. (2006). *Kesehatan mental* (Vol. 3). Yogyakarta: Kanisius.
- Shekelle, P., Maglione, M., Bagley, S., Suttrop, M., Mojica, W. A., Carter, J., Rolon, C., Hilton, L., Zhou, A., Chen, S., Glassman, P., and Newberry, S. (2007). Comparative Effectiveness Review. *Agency for Healthcare Research and Quality U.S. Department of Health and Human Services*, 6, 375.
- Sienaeert, P., Lambrichts, L., Dols, A., and De Fruyt, J. (2013). Evidence-based treatment strategies for treatment-resistant bipolar depression: A systematic review: Treatment-resistant bipolar depression. *Bipolar Disorders*, 15(1), 61–69. <https://doi.org/10.1111/bdi.12026>
- Thaler, K. J., Morgan, L. C., Van Noord, M., Gaynes, B. N., Hansen, R. A., Lux, L. J., Krebs, E. E., Lohr, K. N., and Gartlehner, G. (2012). Comparative Effectiveness Of Second-Generation Antidepressants For Accompanying Anxiety, Insomnia, And Pain In Depressed Patients: A Systematic Review: Antidepressant Effects for Accompanying Symptoms. *Depression and Anxiety*, 29(6), 495–505. <https://doi.org/10.1002/da.21951>
- Wittich, C. M., Burkle, C. M., and Lanier, W. L. (2012). Ten Common Questions (and Their Answers) About Off-label Drug Use. *Mayo Clinic Proceedings*, 87(10), 982–990. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2012.04.017>
- Yulianty, M. D., Cahaya, N., & Srikartika, V. M. (2017). Studi Penggunaan Antipsikotik dan Efek Samping pada Pasien Skizofrenia di Rumah Sakit Jiwa Sambang Lihum Kalimantan Selatan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 3(2), 153. <https://doi.org/10.29208/jsfk.2017.3.2.108>



Pengaruh Pemberian Kombinasi Ekstrak Etanol Brotowali, Sambiloto, Meniran dan Kayu Manis Terhadap Histopatologi Glomerulus Tikus Model Hiperglikemia

Dhadhang Wahyu Kurniawan^{1*}, Novianti Dian Lestari¹, Hidayat Sulisty² dan Cac³

¹Jurusan Farmasi, Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Jenderal Soedirman, Jl. Dr. Soeparno No. 41, Karangwangkal, Purwokerto, Banyumas, Indonesia, 53123.

²Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Jl. Dr. Gumbreg No. 1, Mersi, Purwokerto, Banyumas, Indonesia, 53147.

³Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jenderal Soedirman, Jl. Dr. Soeparno No. 61, Karangwangkal, Purwokerto, Banyumas, Indonesia, 53123.

*email korespondensi: dhadhang.kurniawan@unsoed.ac.id

Received 26 May 2021, Accepted 10 August 2022, Published 15 November 2022

Abstrak: Brotowali, sambiloto, meniran, dan kayu manis merupakan tanaman unggulan Indonesia yang diketahui memiliki kandungan metabolit sekunder yang efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah. Keempat tanaman tersebut telah banyak diteliti dan digunakan untuk mengatasi kondisi hiperglikemia namun keamanan kombinasi keempat tanaman tersebut belum diketahui. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol keempat tanaman tersebut terhadap perubahan histopatologi glomerulus tikus wistar jantan yang mengalami hiperglikemia akut. Tikus Wistar jantan diinduksi hiperglikemia dengan glukosa 2 gram/kgBB kemudian diberi kombinasi ekstrak etanol brotowali, sambiloto, meniran, dan kayu manis dengan dosis terendah (100 gram/kgBB , 100 gram/kgBB , 200 gram/kgBB , dan 300 gram/kgBB) dan tertinggi (500 gram/kgBB , 400 gram/kgBB , 400 gram/kgBB , dan 600 gram/kgBB) pada fase akut selama 24 jam. Perubahan histopatologi yang diamati berupa degenerasi albumin, degenerasi vakuolar, dan perubahan ruang Bowman. Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak memberikan pengaruh terhadap perubahan histopatologi glomerulus tikus hiperglikemia dengan *p value* 0,001 untuk degenerasi albumin dan degenerasi vakuolar; 0,048 untuk pelebaran ruang Bowman; dan 0,020 untuk penyempitan ruang Bowman. Pemberian kombinasi ekstrak dosis rendah memberikan pengaruh terhadap kerusakan glomerulus yang lebih ringan dibandingkan pemberian kombinasi ekstrak dosis tinggi.

Kata kunci: brotowali; histopatologi glomerulus; kayu manis; meniran; sambiloto

Abstract. The Effect of Brotowali, Sambiloto, Meniran, and Cinnamon Extract Combination on Rat Glomerular Histopathology. Brotowali, sambiloto, meniran, and kayu manis are Indonesia's main commodities that have secondary metabolites as hypoglycemic activity. That plants have been used and studied for resolving hyperglycemic condition. However, its safety was remained unknown. The objective of this study was to explore effect of brotowali, sambiloto, meniran, and kayu manis extracts combination against rat glomerular histopathology in acute hyperglycemia. Male wistar rat was induced to hyperglycemia using 2 gram/kg bw glucose following with combination of brotowali, sambiloto, meniran, and kayu manis extracts using lowest dose (100 mg/kgbw, 100 mg/kgbw, 200 mg/kgbw, dan 300 mg/kgbw) and highest dose (500 mg/kgbw, 400 mg/kgbw, 400 mg/kgbw, and 600 mg/kgbw) in acute periode for 24 hour. Histopathological change such albumin and vacuolar degeneration and change in Bowman space were observed. Data of observation were analyzed using Kruskal-Wallis and Mann-Whitney test with 95% Confident Interval (CI). The result showed there are

some effects of administering extracts combination to glomerular histopathological change with p value 0,001 for albumin and vacuolar degeneration; 0,048 for increasing Bowman space; and 0,020 for decreasing Bowman space.

Keywords: brotowali; glomerular histopathology; kayu manis; meniran; sambiloto

1. Pendahuluan

Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu penyakit metabolik yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia kronis akibat gangguan sekresi insulin, abnormalitas kerja insulin atau kombinasi keduanya (Sari & Purnama, 2019). Prevalensi nasional DM berdasarkan pemeriksaan gula darah penduduk usia di atas 15 tahun di daerah perkotaan sebesar 5,7% atau sekitar 12 juta orang. Penyakit ini menduduki ranking ke-2 penyebab kematian di daerah perkotaan dan ke-6 untuk daerah pedesaan. Secara epidemiologi diperkirakan bahwa pada tahun 2030 prevalensi DM di Indonesia mencapai 21,3 juta orang (Kemenkes, 2021).

Terapi yang diberikan untuk penderita diabetes melitus adalah dengan mengontrol kadar glukosa darah dengan menggunakan insulin maupun obat hipoglikemi oral (OHO). Akan tetapi, OHO memiliki keterbatasan penggunaan pada pasien dengan disfungsi ginjal yang merupakan salah satu komplikasi diabetes karena dapat meningkatkan terjadinya efek samping yang tidak diinginkan, memperberat kerja ginjal, dan memperparah kondisinya (Djaya *et al.*, 2011). Fakta tersebut kemudian menjadikan masyarakat lebih memilih pengobatan dengan bahan alam menggunakan tanaman obat karena dianggap tidak memiliki efek samping yang berbahaya seperti obat kimia sintetis (Farida & Claudia Putri, 2016).

Tanaman tropis telah diteliti kemampuannya untuk mengatasi kondisi hiperglikemia, diantaranya mimba (*Azadirachta indica*), cempedak (*Artocarpus champeden*), manggis (*Garcinia mangostana*), rambutan (*Nephelium lappaceum*), sogi *Peltophorum pterocarpum*), jambu air (*Syzygium aqueum*), jambang (*Syzygium cumini*), dan anggur (*Vitis vinifera*) (Manaharan *et al.*, 2012). Selain itu, beberapa tanaman yang telah digunakan sebagai agen antihiperglikemia yaitu brotowali (*Tinospora crispa*) (Pramudya *et al.*, 2020; Purnamasari, 2021; Warsinah *et al.*, 2020), sambiloto (*Andrographis paniculata*) (Syukri *et al.*, 2015; Nugroho *et al.*, 2016), kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) (Damayanti, 2014; Mila, 2016; Anna & Firdus, 2017; Cheng *et al.*, 2012), dan meniran (*Phyllanthus niruri*) (Iswahyudi *et al.*, 2018).

Brotowali, kayu manis dan sambiloto merupakan komoditi tanaman binaan Direktorat Jenderal Perkebunan, Direktorat Jenderal Tanaman Pangan, dan Direktorat Jenderal Hortikultura sesuai dengan Keputusan Menteri Pertanian Nomor 511/Kpts/PD.310/9/2006. Sambiloto merupakan satu dari sembilan tanaman unggulan Indonesia yang dikembangkan untuk uji klinik oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) (Jadid *et al.*, 2020; Yanti,

2020). Sambiloto menjadi tanaman unggulan Indonesia karena dapat tumbuh dengan baik di wilayah Indonesia yang teduh dan agak lembab. Brotowali sendiri telah banyak diteliti khasiat dan mekanismenya sebagai agen penurun glukosa darah (Nugroho *et al.*, 2016). Penggunaan kayu manis pada pasien diabetes juga menunjukkan bahwa pemberian kayu manis dapat menurunkan kadar glukosa darah penggunaanya (Djaya *et al.*, 2011). Meniran merupakan salah satu tanaman obat Indonesia yang telah dikembangkan menjadi fitofarmaka sebagai imunomodulator. Penggunaan meniran selain dapat memodulasi imunitas tubuh dapat juga menurunkan kadar glukosa darah (Okoli *et al.*, 2011).

Brotowali, kayu manis dan sambiloto telah banyak diteliti dan terbukti memiliki kandungan metabolit sekunder yang efektif menurunkan kadar glukosa darah. Brotowali dengan kandungan borapetoside telah terbukti mampu menurunkan kadar glukosa darah. Tanaman ini juga mampu memberikan efek proteksi terhadap progresifitas kerusakan ginjal (Lam *et al.*, 2012; Sharma *et al.*, 2015). Sambiloto dengan kandungan andrografolid juga telah terbukti efektif menurunkan kadar glukosa darah (Li *et al.*, 2015). Meniran dengan kandungan phyllanthin dan hypophyllanthin serta kayu manis dengan kandungan polifenolnya mampu memberikan efek penurunan glukosa darah dengan mempengaruhi enzim pemetabolisme karbohidrat (Muqsita *et al.*, 2015; Oktavidiati *et al.*, 2011).

Ekstrak tanaman pada penggunaan secara tunggal sudah diteliti keamanannya. Ekstrak brotowali diketahui dapat meningkatkan serum kreatinin tanpa adanya perubahan histopatologi pada ginjal (Klangjareonchai *et al.*, 2015). Konsumsi 2 g/kgBB ekstrak sambiloto dan 100 gram/kgBB ekstrak meniran diklaim aman dan tidak menimbulkan toksisitas pada glomerulus ginjal (Nugroho *et al.*, 2016; Tambunan *et al.*, 2019). Ekstrak kayu manis dilaporkan tidak mengakibatkan terjadinya perubahan diameter glomerulus pada tikus yang diinduksi dengan aloksan (Damayanti, 2014). Keempat tanaman tersebut telah banyak diteliti khasiat dan keamanannya untuk pengobatan DM secara tunggal, akan tetapi khasiat dan keamanan kombinasi keempat tanaman tersebut belum diteliti kemampuannya untuk bekerja secara sinergis dengan aman.

Penelitian ini merupakan bagian dari studi efektifitas kombinasi ekstrak brotowali, sambiloto, meniran, dan kayu manis sebagai agen penurun glukosa darah. Paparan glukosa diberikan untuk menginduksi kondisi hiperglikemia hewan uji yaitu tikus wistar jantan sesuai dengan prosedur tes toleransi glukosa oral. Tujuan penelitian ini adalah untuk memastikan bahwa penggunaan kombinasi ekstrak brotowali, sambiloto, meniran, dan kayu manis tidak mengakibatkan terjadinya perubahan pada gambaran histopatologi glomerulus tikus model hiperglikemia. Pejanan glukosa secara akut tidak mengakibatkan terjadinya disfungsi seluler

sehingga jika terjadi perubahan histopatologi pada organ yang diamati maka dapat dipastikan bahwa perubahan tersebut adalah akibat dari pemberian ekstrak.

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan dan alat

Bahan penelitian terdiri dari serbuk batang brotowali, herba sambiloto, batang kayu manis, dan herba meniran (Toko Jamu Ting Bao, Purwokerto), tikus jantan galur Wistar berumur 2–3 bulan dengan bobot badan 150-200 gram, pakan tikus berupa pelet AD2 (PT. COMFED, Surabaya), tablet glibenklamid (Apotik Purwokerto), glukosa teknis, akuades, CMC-Na 1%, etanol 70% (Merck), formalin 10%, dan parafin.

Alat yang digunakan pada penelitian terdiri dari timbangan hewan uji, sonde, spuit injeksi 5 mL, kandang tikus beserta tempat makan dan minumannya dan mikroskop cahaya.

2.2. Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *post-test only control group design* yang menganalisis pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol brotowali, sambiloto, meniran, dan kayu manis terhadap histopatologi glomerulus ginjal tikus wistar jantan hiperglikemia yang diinduksi dengan satu kali pemberian glukosa pada fase akut, yaitu 24 jam setelah pemberian perlakuan. Hewan uji yang digunakan adalah tikus wistar jantan usia 2-3 bulan dengan berat bada 150-200 gram. Seluruh eksperimen menggunakan hewan uji tikus ini telah mendapatkan ethical approval dari Komisi Etik Penelitian Kedokteran (KEPK) Fakultas Kedokteran Unsoed bernomor 101/KEPK/VI/2015.

2.3. Pembuatan ekstrak

Serbuk brotowali, sambiloto, meniran, dan kayu manis masing-masing dimaserasi menggunakan etanol 70% dengan perbandingan 1:5 (500 gram serbuk : 2500 mL etanol) selama 3x24 jam. Maserat diuapkan di atas *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental.

2.4. Perlakuan hewan uji

Hewan uji dibagi ke dalam 4 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor hewan uji (Ayu *et al.*, 2014). Perlakuan untuk masing-masing kelompok adalah kelompok I (kontrol sehat) dengan tidak diberi perlakuan, kelompok II (kontrol hiperglikemia) dengan diberi glukosa 400 mg / 200 g bb dan 30 menit kemudian diukur kadar gula darahnya, setelah itu diberi Na-CMC 1% dengan rute oral, kelompok III dengan diberi glukosa 400 mg / 200 g bb dan 30 menit kemudian diukur gula darahnya lalu diberi kombinasi ekstrak dosis rendah (Tabel 1) dalam Na-CMC 1% dengan rute oral, serta kelompok IV dengan diberi glukosa 400 mg/200 g bb dan 30 menit kemudian diukur gula darahnya sesudah itu diberi kombinasi ekstrak dosis tinggi (Tabel 1) dalam Na-CMC 1% dengan rute oral.

Tabel 1. Dosis ekstrak tanaman unggul Indonesia yang diberikan melalui rute oral pada tikus wistar jantan (Ahmad *et al.*, 2013).

Ekstrak	Dosis (gram/kgBB)	Dosis pemberian	
		Rendah (mg/g bb)	Tinggi (mg/g bb)
Brotowali	100-500	20/200	100/200
Sambiloto	100-400	20/200	80/200
Meniran	200-400	40/200	80/200
Kayu manis	300-600	60/200	120/200

2.5. Pembuatan preparat histopatologi

Hewan uji diterminasi 24 jam setelah pemberian kombinasi ekstrak dengan cara dislokasi servikalis. Organ ginjal hewan uji difiksasi menggunakan netral buffer formalin (NBF) 10%. Selanjutnya, preparat dipotong dan dimasukkan ke dalam cetakan parafin cair (blok parafin) yang kemudian dipotong kembali dengan potongan sagital menggunakan mikrotom (*sectioning*). Preparat yang sudah dipotong kemudian diulas (*staining*) menggunakan *hematoxylin* dan *eosin* (Prahanarendra, 2015; Warsinah *et al.*, 2020).

2.6. Pemeriksaan histopatologi

Sel-sel glomerulus diamati secara histopatologi dengan dilakukan pada 100 glomerulus dan terdapat lesi yang berupa degenerasi albumin, degenerasi vakuolar, serta pelebaran serta penyempitan ruang Bowman. Hasil pengamatan dituangkan dalam bentuk skor sebagaimana tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Parameter skoring histopatologi glomerulus dengan terbentuknya lesi pada tikus wistar jantan (Canales *et al.*, 2012).

Skor	Keterangan
0	Tidak terjadi lesi
+1	Terjadi lesi kurang dari 10 %
+2	Terjadi lesi sebesar 10-25 %
+3	Terjadi lesi sebesar 26-50 %
+4	Terjadi lesi lebih dari 50 %

2.7. Analisis data

Hasil pemeriksaan berupa data skoring yang merupakan data ordinal diolah secara statistik non parametrik univariat. Uji beda antar kelompok perlakuan dilakukan dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis yang membandingkan semua kelompok untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan. Parameter perubahan yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan selanjutnya dianalisis menggunakan uji lanjut untuk mengetahui kelompok perlakuan mana saja yang memberikan perbedaan signifikan. Uji lanjut yang digunakan adalah uji Mann-Whitney yang hanya membandingkan dua kelompok perlakuan. Uji Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney dipilih karena variabel penelitian yang diukur berasal dari kelompok sampel yang independent.

3. Hasil dan Pembahasan

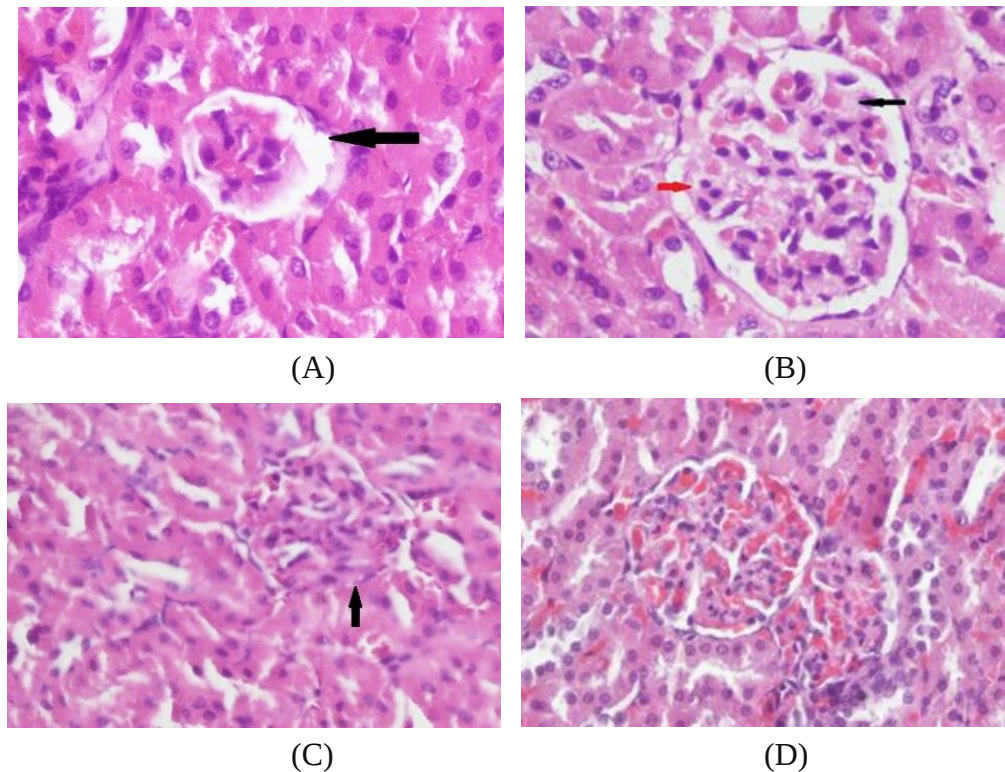
Histopatologi glomerulus diamati perubahannya secara mikroskopik dan dilakukan oleh dua orang observer untuk meminimalkan subyektivitas dalam pengamatan. Hasil pengamatan kedua observer kemudian diolah sehingga diperoleh persentase kesepakatan kedua observer dalam pengamatan. Data pengamatan yang diperoleh dari studi ini menunjukkan nilai kesepakatan sebesar 0,725 atau 72,5%. Nilai kesepakatan ini menunjukkan bahwa pengamatan yang dilakukan oleh kedua observer termasuk ke dalam level kesepakatan yang cukup kuat sehingga hasil pengamatan dapat digunakan lebih lanjut dalam analisis secara statistik. Hasil pengamatan skor perubahan histopatologi glomerulus ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Skor perubahan histopatologi glomerulus tikus model hiperglikemia. Keterangan: Kelompok I : Kontrol sehat, Skor 0 : Kerusakan 0%; Kelompok II : Kontrol hiperglikemia, Skor 1 : Kerusakan <10%; Kelompok III : Kombinasi ekstrak dosis rendah, Skor 2 : Kerusakan 10-25%; Kelompok IV : Kombinasi ekstrak dosis tinggi, Skor 3 : Kerusakan 26-50%, Skor 4 : Kerusakan >50%.

Kelompok	Ulangan	Degenerasi albumin	Degenerasi vakuolar	Ruang Bowman melebar	Ruang Bowman menyempit
I	1	0	1	2	1
	2	0	1	1	1
	3	0	2	1	1
	4	0	1	1	1
	5	0	1	1	1
II	1	4	3	2	1
	2	4	3	1	2
	3	4	3	2	2
	4	4	3	2	1
	5	4	3	2	1
III	1	3	2	1	2
	2	3	2	1	2
	3	3	2	1	2
	4	3	2	1	2
	5	4	2	1	2
IV	1	4	4	2	1
	2	4	3	2	2
	3	4	4	2	1
	4	4	4	1	2
	5	4	3	1	2

Hasil pengamatan secara mikroskopik pada glomerulus tikus menunjukkan perubahan berupa degenerasi albumin, degenerasi vakuolar, dan perubahan ruang Bowman (Gambar 1). Degenerasi albumin merupakan suatu kondisi dimana terjadi perubahan permeabilitas membran sel akibat adanya jejas sehingga protein albumin dapat melintasi membran dan masuk ke dalam sel. Akibatnya, terjadi peningkatan volume cairan dalam sel yang mengakibatkan sel membesar atau mengalami udem dan warna sitoplasma tampak menjadi lebih pucat. Vakuola dalam sel glomerulus merupakan kelanjutan dari degenerasi albumin yang tampak akibat terjadinya pembengkakan retikulum endoplasma (Prahanarendra, 2015). Perubahan ruang Bowman

merupakan akibat dari sel-sel glomerulus yang mengalami degenerasi sehingga membengkak maupun akibat sel-sel glomerulus mengalami atrofi.



Gambar 1. Gambaran perubahan histopatologi glomerulus tikus model hiperglikemia hasil pewarnaan hematoksilin & eosin (H&E) pada perbesaran 400x. Keterangan: A = kelompok III, ruang Bowman melebar (panah hitam), B = kelompok IV (diberi glukosa 400 mg/200 g bb dan 30 sesudahnya diberi kombinasi ekstrak dosis tinggi), degenerasi albumin (panah hitam) dan degenerasi vakuolar (panah merah), C = kelompok II (kontrol hiperglikemia, diberi glukosa 400 mg/200 g bb), ruang Bowman menyempit (panah hitam) dan D = kelompok I (kontrol sehat, tidak diberi perlakuan), glomerulus normal.

Hasil perubahan histopatologi glomerulus dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis menunjukkan adanya perbedaan degenerasi albumin yang bermakna antar kelompok uji. Uji lanjut menggunakan Mann-Whitney menunjukkan bahwa perbedaan yang signifikan terjadi antara kelompok I dan II, I dan III, I dan IV, II dan III, serta III dan IV. Degenerasi albumin yang diamati mencapai nilai 49% pada kelompok III dan lebih dari 80% pada kelompok II dan IV sedangkan kelompok I yang merupakan kontrol sehat tidak mengalami degenerasi albumin sama sekali. Perubahan yang terjadi pada kelompok II dan IV tidak mengalami perbedaan yang bermakna.

Degenerasi vakuolar yang terjadi mengalami perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Berdasarkan uji Mann-Whitney, hanya pasangan kelompok II dan IV yang tidak mengalami perbedaan signifikan. Meskipun secara statistik kedua kelompok ini tidak mengalami perbedaan yang signifikan namun terdapat perbedaan persentase rata-rata

glomerulus yang mengalami degenerasi vakuolar, yaitu sebesar 37,6% pada kelompok II dan 50,7% pada kelompok IV. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak dosis tinggi memberikan pengaruh terhadap peningkatan persentase glomerulus yang mengalami degenerasi vakuolar. Pemberian kombinasi ekstrak dosis rendah memberikan pengaruh terhadap persentase degenerasi vakuolar yang lebih ringan dibandingkan kontrol hiperlikemi. Persentase rata-rata glomerulus yang mengalami degenerasi albumin dan vakuolar disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Persentase rata-rata degenerasi albumin dan vakuolar. Keterangan: kelompok I: kontrol sehat, tidak diberi perlakuan; kelompok II: control hiperglikemia, diberi glukosa 400 mg/200 g bb; kelompok III: diberi glukosa 400 mg/200 g bb, 30 menit kemudian diberi kombinasi ekstrak dosis rendah; kelompok IV: diberi glukosa 400 mg/200 g bb dan 30 sesudahnya diberi kombinasi ekstrak dosis tinggi. Rata-rata dalam bentuk $\bar{x} \pm SD$, ^a : Berbeda signifikan dengan kelompok I (kontrol sehat), ^b : Berbeda signifikan dengan kelompok II (kontrol hiperglikemia).

Kelompok	Rata-rata degenerasi albumin (%)	Rata-rata degenerasi vakuolar (%)
I	0 ^b	4,30 $\pm$ 4,222 ^b
II	85,0 $\pm$ 5,037	37,60 $\pm$ 6,138 ^a
III	49,4 $\pm$ 3,070 ^{a,b}	21,00 $\pm$ 2,692 ^b
IV	86,0 $\pm$ 6,538 ^a	50,70 $\pm$ 13,567 ^a

Glomerulus yang mengalami degenerasi akan membesar sehingga ruang Bowman yang merupakan celah antara glomerulus dan kapsula Bowman yang menyelubunginya menyempit. Penyempitan ruang Bowman mengalami perbedaan yang signifikan antarkelompok perlakuan. Perbedaan yang signifikan terjadi pada kelompok I dan III. Penyempitan ruang Bowman antara kelompok kontrol (I dan II) dengan kelompok IV secara statistik tidak mengalami perbedaan yang signifikan tetapi persentase perubahan yang terjadi pada ketiga kelompok tersebut menunjukkan adanya perbedaan dimana pemberian kombinasi ekstrak memberikan persentase pelebaran ruang Bowman lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Glomerulus dapat mengalami kerusakan akibat paparan suatu zat toksik atau jejas yang lebih parah dari degenerasi, yaitu terjadinya atrofi glomerulus dimana ukuran glomerulus mengecil dan mengakibatkan ruang Bowman tampak melebar (Markowitz *et al.*, 2000). Pelebaran ruang Bowman mengalami perbedaan yang signifikan antarkelompok perlakuan. Perbedaan yang signifikan terjadi pada pasangan kelompok II dan III. Kelompok yang mendapat kombinasi ekstrak menunjukkan persentase pelebaran ruang Bowman yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok kontrol hiperglikemia. Persentase perubahan ruang Bowman disajikan pada Tabel 5.

Kelompok yang mendapat paparan glukosa memberikan gambaran ginjal lebih pucat dari kelompok I yang diduga karena kurangnya perdarahan pada ginjal sebagai akibat dari kondisi hiperglikemia. Kondisi ini tidak sesuai dengan hasil studi Marzel (2021) yang menyatakan

bahwa tidak ada disfungsi seluler pada paparan glukosa secara akut, akan tetapi studi lain yang dilakukan oleh Djaya *et al.*, (2011) menunjukkan bahwa kondisi hiperglikemia dapat mengakibatkan terjadinya perubahan vaskularisasi pada ginjal dimana terjadi vasokonstriksi intrarenal yang mengakibatkan penurunan suplai darah ke ginjal.

Tabel 5. Persentase perubahan ruang Bowman. Keterangan: kelompok I: kontrol sehat, tidak diberi perlakuan; kelompok II: control hiperglikemia, diberi glukosa 400 mg/200 g bb; kelompok III: diberi glukosa 400 mg/200 g bb, 30 menit kemudian diberi kombinasi ekstrak dosis rendah; kelompok IV: diberi glukosa 400 mg/200 g bb dan 30 sesudahnya diberi kombinasi ekstrak dosis tinggi. Rata-rata dalam bentuk $\bar{x} \pm SD$, ^a : $p < 0,05$, berbeda signifikan dengan kelompok I (kontrol sehat), ^b : $p < 0,05$, berbeda signifikan dengan kelompok II (kontrol hiperglikemia)

Kelompok	Rata-rata pelebaran ruang Bowman (%)	Rata-rata penyempitan ruang Bowman (%)
I	4,50 ± 3,674	6,50 ± 1,968
II	15,60 ± 5,716	8,67 ± 7,522
III	5,60 ± 1,782 ^b	13,80 ± 2,864 ^a
IV	11,50 ± 4,569	14,30 ± 6,311

Studi yang dilakukan oleh Wang *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa kondisi hiperglikemia akut turut berperan dalam terjadinya kerusakan ginjal. Kerusakan yang terjadi secara histopatologi hanya teramati pada bagian tubulus proksimal ginjal sedangkan glomerulus hanya mengalami perubahan permeabilitas tanpa diikuti perubahan histopatologi. Penelitian yang dilakukan menunjukkan hasil yang berbeda dengan literatur tersebut, yaitu terjadi perubahan histopatologi glomerulus pada kelompok kontrol hiperglikemia.

Hiperglikemia dapat mengganggu kerja metabolik dan vaskular insulin yang kemudian dapat menurunkan suplai darah ke ginjal melalui vasokonstriksi pembuluh-pembuluh darah ginjal. Menurunnya suplai darah ke ginjal mengakibatkan suplai oksigen bagi sel-sel glomerulus berkurang. Oksigen dibutuhkan oleh sel untuk proses metabolisme menghasilkan ATP yang selanjutnya berperan untuk menggerakkan pompa Na/K. Pompa ini berperan dalam pengaturan keseimbangan cairan dalam sel (Pramudya *et al.*, 2020). Penurunan suplai darah ke ginjal pada akhirnya dapat mengakibatkan gangguan keseimbangan cairan dalam sel sehingga terjadi degenerasi sel.

Hiperglikemia secara spesifik mempengaruhi permeabilitas glomerulus sehingga protein dengan ukuran molekul besar seperti albumin dapat melewati membran glomerulus. Perubahan histopatologi glomerulus pada kondisi hiperglikemia akut berkaitan dengan peningkatan *reactive oxidative species* (ROS) dan penurunan produksi *nitric oxide* (NO) yang mengakibatkan terjadinya hiperpermeabilitas albumin disebabkan terjadinya peningkatan flux albumin transglomerulus. Mekanisme lain perubahan histopatologi glomerulus terjadi karena pada kondisi hiperglikemia akut terjadi peningkatan sitokin-sitokin pro-inflamasi seperti

prostaglandin dan prostasiklin (Sward & Rippe, 2012). Albumin yang lolos dari tahap filtrasi glomerulus ini seharusnya direabsorpsi oleh tubulus proksimal. Akan tetapi, kondisi hiperglikemia juga mengakibatkan kerusakan seluler pada tubulus proksimal sehingga tidak bisa berfungsi dengan baik. Akibat dari kondisi ini adalah terjadinya *overload* protein albumin dalam ginjal. Pada akhirnya, protein ini diekskresikan dalam urin dan menimbulkan suatu kondisi albuminuria yang merupakan salah satu penanda kerusakan ginjal (Wang *et al.*, 2015).

Ekstrak tunggal dari keempat tanaman yang digunakan tidak menunjukkan terjadinya perubahan histopatologi glomerulus (Adeoye *et al.*, 2018) akan tetapi pemberian kombinasi ekstrak menunjukkan adanya perubahan histopatologi glomerulus. Pengaruh ini dapat muncul karena adanya akumulasi senyawa dari masing-masing ekstrak yang memiliki potensi nefrotoksik. Selain sebagai akibat dari akumulasi, perubahan yang muncul dapat juga diakibatkan oleh adanya interaksi antara satu senyawa dengan senyawa lain dari keempat ekstrak tersebut.

Andrografolid yang merupakan senyawa aktif dari sambiloto diketahui bersifat sebagai induser enzim pemetabolisme, yaitu CYP-1A2 (Syamsul *et al.*, 2011). Enzim ini merupakan salah satu subkelas dari CYP yang merupakan enzim pemetabolisme utama di hati. Induksi enzim ini mengakibatkan jumlah CYP meningkat dan metabolisme senyawa-senyawa yang merupakan substrat dari enzim ini menjadi lebih cepat. Metabolisme borapetosid menjadi senyawa toksik yang menginduksi apoptosis oleh CYP meningkat dengan adanya andrografolid dan menyebabkan terjadinya peningkatan konsentrasi senyawa toksik tersebut di dalam tubuh (Klangjareonchai *et al.*, 2015). Andrografolid terbukti dapat memperbaiki kondisi diabetes nefropati melalui penurunan hiperglikemia yang dimediasi oleh stress oksidatif ginjal dan inflamasi via jalur Akt/NF- κ B (Ji *et al.*, 2016).

Borapetosid, phyllanthin, hypophyllanthin, dan senyawa-senyawa dalam kayu manis merupakan substrat dari enzim mikrosomal hati, yaitu CYP (Klangjareonchai *et al.*, 2015). Phyllantin yang terdapat dalam meniran (*Phyllanthus niruri*) terbukti dapat memperbaiki fungsi ginjal, memperbaiki stress oksidatif ginjal, inflamasi, fibrosis dan apoptosis, dan meningkatkan proliferasi sel di dalam tikus jantan dewasa model diabetes melitus (Giribabu *et al.*, 2017). Berdasarkan hasil penelitian di atas, perlu dilakukan pengkajian lebih mendalam terkait mekanisme kerja keempat kombinasi tanaman tersebut apabila digunakan untuk terapi diabetes melitus, salah satunya melalui penggunaan hewan coba yang diinduksi streptozotocin (Suwanto & Rahmawati, 2019).

4. Kesimpulan

Kombinasi ekstrak etanol brotowali, sambiloto, meniran, dan kayu manis memberikan pengaruh terhadap perubahan histopatologi glomerulus tikus hiperglikemia. Pemberian kombinasi ekstrak dosis rendah memberikan pengaruh terhadap kerusakan glomerulus yang lebih ringan dibandingkan pemberian kombinasi ekstrak dosis tinggi.

Ucapan Terimakasih

Terima kasih diucapkan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Jenderal Soedirman (Unsoed) yang telah memberikan dana untuk terlaksananya penelitian ini melalui skema hibah bersaing tahun 2015.

Deklarasi Konflik Kepentingan

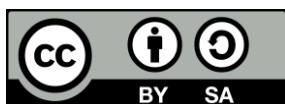
Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

Daftar Pustaka

- Adeoye, B. O., Asenuga, E. R., Oyagbemi, A. A., Omobowale, T. O., dan Adedapo, A. A. (2018). The Protective Effect of the Ethanol Leaf Extract of *Andrographis paniculata* on Cisplatin-Induced Acute Kidney Injury in Rats Through nrf2/KIM-1 Signalling Pathway. *Drug Research*, 68(1), 23–32. <https://doi.org/10.1055/s-0043-118179>
- Ahmad, M., Lim, C.P., Akowuah G.A., Ismail, N.N., Hashim, M.A., Hor, S.Y., Ang, L.F., dan Yam, M. F. (2013). Safety Assessment of Standarised Methanol Extract of *Cinnamomum burmannii*. *Phytomedicine*, 20, 1124–1130.
- Anna, I. L., dan Firdus, F. (2017). Efek pemberian ekstrak etanol kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Ness Ex BI.) terhadap kadar ureum dan kreatinin tikus (*Rattus novergicus*). *Bioleuser*, 1(2), 70–75.
- Ayu, R. D., Fatimawali, dan Citraningtyas, G. (2014). Uji Efektivitas Penurunan Kadar Gula Darah Ekstrak Etanol Daun Sendok (*Plantago major* L.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus novergicus*) Yang Diinduksi Sukrosa. *Pharmakon*, 3(2), 134–140.
- Canales, B.K., Reyes, L., Reinhard, M.K., Khan, S.R., Goncalves, C.G., dan Meguid, M. . (2012). Renal Glomerular and Tubular Injury After Gastric Bypass in Obese Rats. *Nutrition*, 28(1), 76–80.
- Cheng, D.M., Peter, K., Alexander, P., Leonel, E.R., Marry, A.L., dan Ilya, R. (2012). In Vivo and In Vitro Antidiabetic Effects of Aqueous Cinnamon Extract and Cinnamon Polyphenol-Enhanced Food Matrix. *Food Chemistry*, 135(4), 2994–3002.
- Damayanti, F. (2014). Efek Pemberian Ekstrak Etanol Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) Terhadap Diameter Glomerulus Ginjal Pada Tikus Wistar Jantan Hiperglikemi Hasil Induksi Aloksan. *Skripsi*. Universitas Jember.
- Djaya, N., Hidayat, J., Sidharta, V. M., Natalia Puspawati, A. M., dan Dara, M. (2011). Pengaruh ekstrak kayu manis terhadap kadar glukosa darah tikus. *Journal of Medicine*, 10(3), 121–124.
- Farida, Y., dan Claudia Putri. (2016). Efek Penggunaan Simvastatin Terhadap Kenaikan Gula Darah Puasa Pasien Diabetes Melitus Tipe 2. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 01(01), 58–65. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v1i1.696>
- Giribabu, N., Karim, K., Kilari, E. K., dan Salleh, N. (2017). *Phyllanthus Niruri* Leaves Aqueous Extract Improves Kidney Functions, Ameliorates Kidney Oxidative Stress, Inflammation, Fibrosis And Apoptosis And Enhances Kidney Cell Proliferation In Adult Male Rats With Diabetes Mellitus. *Journal of Ethnopharmacology*, 205, 123–137. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.05.002>

- Jadid, N., Purwani, K. I., Nurhidayati, T., Navastara, A. M., Ermavitalini, D., dan Muslihatin, W. (2020). Pengembangan Kebun Bibit Herbal Organik Sebagai Unit Pendukung Konsep Agrowidyawisata di Desa Oro-Oro Ombo, Kota Batu, Malang. *JURPIKAT (Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat)*, 1(2), 178-189.
- Ji, X., Li, C., Ou, Y., Li, N., Yuan, K., Yang, G., Chen, X., Yang, Z., Liu, B., Cheung, W. W., Wang, L., Huang, R., dan Lan, T. (2016). Andrographolide Ameliorates Diabetic Nephropathy By Attenuating Hyperglycemia-Mediated Renal Oxidative Stress And Inflammation Via Akt/NF- κ B pathway. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 437, 268–279. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.06.029>
- Kemenkes, RI. (2021). Riset kesehatan dasar. Available from: <https://www.kemkes.go.id/article/view/414/tahun-2030-prevalensi-diabetes-melitus-di-indonesia-mencapai-213-juta-orang.html> [Accessed 2th April 2021].
- Klangjareonchai, T., Putadechakum, S., dan Roongpisuthipong, C. (2015). Review of Antihyperglycemic Effect of *Tinospora crispa*. *Walailak Journal of Science and Technology*, 12(5), 403–406.
- Lam, S.H., Ruan, C.T., Hsieh, P.H., Su, M.J., dan Lee, S. . (2012). Hypoglycemic Diterpenoids from *Tinospora crispa*. *Journal of Natural Products*, 75, 153–159.
- Li, Y.M., Yan, H., Zhang, Z., Zhang, G., Sun, Y., Yu, P., Wang, Y., dan Xu, L. (2015). Andrographolide Derivative AL-1 Improve Insulin Resistance Through Down-Regulation of NF- κ B Signaling Pathway. *British Journal of Pharmacology*, 25, 1–8.
- Manaharan, T., Uma, D.P dan Cheng, H. M. (2012). Tropical Plant Extracts as Potential Antihyperglycemic Agents. *Molecules*, 17, 5915–5923.
- Markowitz, G. S., Kambham, N., Maruyama, S., Appel, G. B., Cohen, D. J., Kim, R. C., Andres, G. A., dan D'Agati, V. D. (2000). Membranous Glomerulopathy With Bowman's Capsular And Tubular Basement Membrane Deposits. *Clinical Nephrology*, 54(6), 478–486.
- Marzel, R. (2021). Terapi Pada DM Tipe 1. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 3(1), 51–62.
- Mila, H. (2016). Efek Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum cassia*) Terhadap Indeks Apoptosis Sel Jantung Pada Tikus Jantan Diabetes Melitus: Studi Awal. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Muqsita, V., Sakinah, E. N., dan Santosa, A. (2015). Efek Ekstrak Etanol Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap Kadar MDA Ginjal pada Tikus Wistar Hiperglikemi. *Jurnal Pustaka Kesehatan*, 3(2), 235–238.
- Nugroho, A., Rahardianingtyas, E., Putro, D.B.W., dan R. W. (2016). Pengaruh Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) terhadap Daya Bunuh Bakteri *Leptospira* sp. *Media Litbangkes*, 26(2), 77–84. <https://doi.org/10.22435/mpk.v26i2.5444.77-84>
- Okoli, C.O., Obidike, I.C., Ezike, A.C., Akah, P.A., dan Salawu, O. (2011). Studies on the Possible Mechanisms of Antidiabetic Activity of Extract of Aerial Parts of *Phyllanthus niruri*. *Pharmaceutical Biology*, 49(3), 248–255.
- Oktavidiati, E.M.A., Chozin, N. Wijayanto, M. Ghulamahdi, dan L. K. D. (2011). Pertumbuhan Tanaman Dan Kandungan Total Filantin Dan Hipofilantin. *Jurnal Littri*, 17(1), 25–31.
- Prahanarendra, G. (2015). Studi Awal Histoteknik: Gambaran Histologi Organ Ginjal, Hepar, dan Pankreas Tikus Sprague dawley dengan Pewarnaan HE dengan Fiksasi 3 Minggu. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Pramudya, M., Zuraidassanaaz, N. I., Ilma, N., Savira, I., Sakinatussajidah, E., dan Putri, I. P. (2020). Crude Methanol Extract Of Brotowali Leaves (*Tinospora crispa*) As Biolarvacide Against Dengue Vector Aedes Aegypti. *Ecology, Environment and Conservation*, 26, 36–40.
- Purnamasari, A.B. (2021). Effect of Brotowali Extract Fortification of Papaya Leaves And Sugar Cane Caries on Diabetes Mellitus Type II Effect of Brotowali Extract Fortification

- of Papaya Leaves And Sugar Cane Caries on Diabetes Mellitus Type II. *Journal of Physics: Conference Series*, 1752, 012151. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1752/1/012051>
- Sari, N., dan Purnama, K. A. (2019). Aktivitas Fisik dan Hubungannya dengan Kejadian Diabetes Melitus. *Window of Health : Jurnal Kesehatan*, 2(4), 368–381.
- Sharma, R., Amin, H., Galib, dan Prajapati, P. (2015). Antidiabetic Claims of *Tinospora cordifolia* (Willd.) Miers: Critical Appraisal and Role in Therapy. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(1), 63–73.
- Suwanto, S., dan Rahmawati, R. (2019). Aktivitas Hipoglikemik Diet Pakan Ekstrak Biji Labu Kuning (*Cucurbita moschata* Duch) Pada Mencit Diabetes Melitus Terpapar Streptozotocin. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 4(1), 39. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v4i1.27292>
- Sward, P. dan Rippe, B. (2012). Acute and Sustained Actions of Hyperglycemia on Endothelial and Glomerular Barrier Permeability. *Acta Physiologica*, 204, 294–307.
- Syamsul, E.S., Nugroho, A.E., dan Pramono, S. (2011). Aktivitas Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Terpurifikasi Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burn.F.) Ness.) dan Metformin pada Tikus DM Tipe 2 Resisten Insulin. *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 124–131.
- Syukri, Y., Nugroho, A. E., dan Ronny, M. E. L. (2015). Validasi Penetapan Kadar Isolat Andrografolid dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) Menggunakan HPLC. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 2(1), 8–14.
- Tambunan, R. M., Swandiny, G. F., dan Zaidan, S. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol 70 % Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Terstandar. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 12(2), 60–64.
- Wang, Y.J., Yang, J.H., Xu, J., Jia, J.Y., Zhang, X.R., Yue, X.D., Chen, L.M., Shan, C.Y., Zheng, M.Y., Han, F., Zhang, Y., Yang, X.Y., dan Chang, B. (2015). Renal Tubular Damage May Contribute More to Acute Hyperglycemia Induced Kidney Injury in Non-Diabetic Conscious Rats. *Journal of Diabetes and It's Complications*, 1–8.
- Warsinah, W., Baroroh, H. N., dan Harwoko, H. (2020). Phytochemical Analysis And Antioxidant Activity Of Brotowali (*Tinospora crispa* L. Mier) Stem. *Molekul*, 15(2), 73–78.
- Yanti, S. (2020). Penyuluhan Penanaman Tanaman Obat Keluarga Di Desa Labuhan Labo. *Jurnal Education And Development*, 8(1), 428–428.





Formulasi dan Uji Kestabilan Fisik Suspensi Polih herbal Bawang Putih, Jahe Merah dan Lemon

Fith Khaira Nursal*, Nining dan Dania Athaya Putri

Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka, Jl. Delima II, Klender, Jakarta Timur, Indonesia, 13460.

*email korespondensi: nining@uhamka.ac.id

Received 20 November 2021, Accepted 17 November 2022, Published 30 November 2022

Abstrak: Gangguan kardiovaskular merupakan penyakit dengan tingkat prevalensi yang cukup tinggi di Indonesia, salah satunya adalah hiperlipidemia. Pengobatan dan pencegahannya dapat melalui konsumsi beberapa herbal, disamping penanganan medis berupa senyawa sintetis. Kombinasi bawang putih, jahe merah, dan lemon terbukti dapat berperan sebagai antihiperlipidemia, dan telah banyak dikonsumsi dalam bentuk cairan minuman. Stabilitas merupakan masalah yang sering muncul dalam sediaan cair. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formula optimal suspensi polih herbal (bawang putih, jahe merah, dan lemon) dan melakukan uji kestabilan fisik sediaan formula optimal. Stabilitas sediaan menjadi parameter yang ditentukan sebagai standar persyaratan sediaan yang memenuhi kriteria. Susunan formula terdiri dari komponen tetap umbi jahe merah 2 g, bawang putih 1,5 g, dan cuka apel 1 g, serta komponen yang bervariasi yaitu hidroksi propil metil selulosa (HPMC) sebagai peng suspensi, lemon, dan madu. Optimasi formula dilakukan dengan metode *Box-Behnken Design* dengan menentukan pengaruh faktor konsentrasi komponen suspensi (HPMC, madu, dan lemon) terhadap karakteristik fisik seperti pH, viskositas, volume sedimentasi, dan redispersibilitas. Hasil optimasi diperoleh komposisi HPMC 0,25%, lemon 0,2% dan madu 4,6%. Stabilitas fisik sediaan selama empat minggu pada tiga suhu (ruang, 25°C, dan 40°C) tidak mengalami perubahan organoleptis, pH rentang 4,20-4,49, dan viskositas dibawah 50 cps. Berdasarkan volume sedimentasi dan pengamatan redispersibilitas, sediaan masuk kategori yang mudah dituang. Penyimpanan dengan perbedaan suhu mempengaruhi nilai pH, namun tidak berbeda bermakna terhadap nilai viskositas.

Kata kunci: evaluasi fisik; optimasi; polih herbal; suspensi

Abstract. Formulation and physical evaluation of polyherbal suspension of garlic, red ginger, and lemon. Cardiovascular disorders are a disease with a relatively high prevalence rate in Indonesia. One of the most common disorders is hyperlipidemia. Treatment and prevention can be through the consumption of several herbs and medical treatments in the form of synthetic compounds. The combination of garlic, red ginger, and lemon has antihyperlipidemic activity and has been widely consumed as a beverage. Stability is a problem that often arises in liquid preparations. This study aimed to optimize the formula for polyherbal suspension (garlic, red ginger, and lemon) and to characterize the physical stability of the optimal formula preparation. The preparation's stability was a parameter determined as a standard for preparation requirements that meet the criteria. The composition of the formula consisted of the fixed components of 2 g of red ginger root, 1.5 g of garlic, and 1 g of apple cider vinegar, as well as various components, namely hydroxy propyl methylcellulose (HPMC) as a suspending agent, lemon and honey. Optimization was carried out using the Box-Behnken design by determining the effect of the concentration factors of the suspension components (HPMC, honey, and lemon) on physical characteristics such as pH, viscosity, sedimentation volume, and re-dispersibility. The optimized formulation was 0.25% HPMC, 0.2% lemon, and

4.6% honey. The physical stability of the preparations for four weeks at three temperatures (room, 25°C, and 40°C) did not change organoleptic, pH ranged from 4.20 to 4.49, and viscosity below 50 Cp. Based on the sedimentation volume and observations of re-dispersibility, the preparation was easy to pour category. Storage at different temperatures affected the pH value, while had no impact on the viscosity value.

Keywords: physical evaluation; optimation; polyherbal; suspension

1. Pendahuluan

Bahan alam Indonesia sangat berpotensi dikembangkan dalam pengembangan obat tradisional menuju obat herbal terstandar. Komoditas tanaman produksi dalam negeri yang berpotensi dan sering digunakan oleh masyarakat adalah jahe merah, bawang putih, dan lemon (BPPS, 2017). Jahe merupakan rimpang biofarmaka yang produksinya paling tinggi dengan produktivitas 20,3 ton/ha (BPS, 2018). Lemon lokal juga merupakan komoditas tanaman hortikultura dengan peluang pasar dan permintaan tinggi seiring dengan meningkatnya tren hidup sehat di masyarakat (Kementerian Pertanian RI, 2020). Jahe merah (*Zingiber officinale* Rosc. var *rubrum*) dengan kandungan senyawa fenolik memiliki aktivitas antioksidan dan antihiperkolesterolemia. Secara in vivo, ekstraknya berpengaruh signifikan terhadap profil lipid dan berat tikus hiperlipidemia pada dosis 200 mg/kg (Nirvana *et al.*, 2020). Bawang putih (*Allium sativum*) dalam pengobatan tradisional telah digunakan sejak jaman dulu dan dikenal luas dalam pencegahan dan pengobatan penyakit kardiovaskular melalui penekanan oksidasi LDL, meningkatkan HDL, serta menurunkan TC dan TG (Ried *et al.*, 2013). Hasil penelitian terhadap persepsi partisipan penderita hiperkolesterolemia dan pengaruh minuman herbal campur (*Z. officinale*, *A. sativum*, *C. limon*, cuka *M. domestica*, dan madu) terhadap profil lipid, menyimpulkan bahwa minuman herbal campuran dapat dijadikan sebagai alternatif obat tradisional penurun kolesterol (Abdillah *et al.*, 2020). Ramuan herbal yang banyak digunakan di masyarakat berupa sediaan solid seperti kapsul, kaplet, atau tablet serta likuid seperti rebusan, cairan, atau sirup (Delima *et al.*, 2012; Gitawati *et al.*, 2015). Hasil survey yang dilakukan terhadap minat masyarakat pada herbal, bentuk sediaan yang paling disukai adalah bentuk cairan (55,3%), seduh/serbuk (44,1%), rebusan/rajan (20,3%), dan kapsul/pil/tablet (11,6%) (BPPK, 2010). Suspensi adalah bentuk sediaan yang dipilih dalam penelitian ini, dikarenakan komposisi dari beberapa herbal yang tidak larut air, serta menutupi rasa yang tidak enak melalui penambahan madu dan cuka apel. Sebagai peng suspensi dipilih hidroksi propil metil selulosa (HPMC) yang selanjutnya menjadi variabel bebas dan menjadi salah satu pengukuran stabilitas fisik sediaan, melalui nilai viskositas. Pemilihan HPMC didasari atas kemampuan mengembang yang lebih baik dibanding jenis polimer lain (Ermawati & Prilantari, 2018).

Studi stabilitas sediaan merupakan tahapan penting dalam menentukan formula suspensi yang optimal berdasarkan karakteristik bahan aktif sehingga diperoleh sediaan yang

berkualitas, aman, dan berkhasiat. Studi ini dapat dijadikan dasar yang akurat dalam penentuan umur simpan produk. Belum ditemukan data-data terkait stabilitas bahan secara menyeluruh, sehingga dalam penelitian ini akan diperoleh informasi tentang interaksi diantara bahan aktif dan eksipien yang mempengaruhi kestabilan, terutama sediaan cair seperti suspensi. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formula optimal suspensi polih herbal (bawang putih, jahe merah, dan lemon) dan melakukan uji kestabilan fisik sediaan formula optimal.

2. Bahan dan Metode

2.1 Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bawang putih tunggal (China), jahe merah (Medan, Indonesia), cuka apel Nutrigreat (Malang, Indonesia), lemon lokal (Palembang, Indonesia), madu hutan El-Hadi (Riau, Indonesia), HPMC/Metolose 60 SH (Shin-Etsu, Jepang), dan *aquadest*.

Alat yang digunakan neraca analitik Ohaus-PioneerTM (New Jersey, USA), *blender* Philips (Jakarta, Indonesia), *homogenizer* Ika-Ultraturrax® T18 digital (Staufen, Jerman), *hot plate* Akebono MSP-3101 (Jakarta, Indonesia), pH meter Hanna Instrument type H184131 (Woonsocket, USA), viskometer Brookfield LV DV-E (Massachusetts, USA), dan peralatan gelas lainnya yang biasa digunakan di laboratorium.

2.2. Metode penelitian

2.2.1. Optimasi formula suspensi

Tahap pendahuluan menentukan formula optimal suspensi dengan metode *Response Surface Methods* (RSM) *Box-Behnken* dengan menetapkan faktor variabel bebas (x) yaitu jumlah peng suspensi HPMC (0,25-5%), lemon (0,5-2 g), dan madu (3-10 g). Rentang jumlah variabel bebas sesuai kadar lazim yang telah ditetapkan dalam aturan penggunaan herbal tersebut sebagai minuman kesehatan, dan dikoneversikan sesuai jumlah yang dibuat. Pada tahap ini disusun 15 formula yang disiapkan kemudian evaluasi sebagai respon (y) yaitu meliputi pH, viskositas, dan redispersibilitas. Komponen tetap dari formula yaitu umbi bawang putih (2,0 g), rimpang jahe merah (1,5 g), dan cuka apel (1 g), seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi formula suspensi polih herbal dengan metode RSM (*Response Surface Methods*) desain *Box-Behnken*.

Bahan	Jumlah	Fungsi
Umbi bawang putih (g)	2	Senyawa aktif
Rimpang jahe merah (g)	1,5	Senyawa aktif
Cuka apel (g)	1	Senyawa aktif
Lemon (g)	0,2-2	Perasa
Madu (g)	3-10	Perasa
HPMC (%)	0,25-5	Peng suspensi
Aquadest ad (g)	100	Pelarut

2.2.2. Preparasi sediaan suspensi

Sediaan dibuat dengan optimasi proses pengembangan HPMC dengan menentukan jumlah air yang dibutuhkan untuk mengembangkan HPMC, suhu pengadukan, dan waktu pengembangan. HPMC dikembangkan dalam air selama 24 jam (M1) dan bawang putih dihaluskan dengan penambahan air hangat (50°C; M2). Jahe merah dihaluskan dengan menambahkan air hangat dalam *blender*, kemudian disaring dan diambil filtratnya dan dicampurkan ke dalam M2. Lemon diperas kemudian air perasan dicampurkan ke dalam M2. Campuran M2 dicukupkan volumenya dengan penambahan cuka apel dan *aquadest* kemudian dididihkan. Setelah dingin, campurkan M1 ke dalam M2, dan ditambahkan madu yang sudah ditimbang sesuai ukuran, dan sediaan dipindahkan ke dalam wadah botol kaca.

2.2.3. Studi stabilitas suspensi

Stabilitas merupakan tahap akhir penelitian yang diawali dengan pengamatan organoleptis terhadap sediaan suspensi. Studi stabilitas mengikuti Rancangan Pedoman Uji Stabilitas secara fisika meliputi organoleptik, viskositas, pH, variasi ukuran partikel, dan redispersibilitas (BPOM, 2018). Pengamatan dilakukan pada dua suhu penyimpanan, yaitu suhu 4°C dan 45°C serta suhu ruang (30°C) sebagai pembandingan.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Optimasi formula suspensi

Optimasi merupakan tahap yang penting dalam formulasi karena memudahkan untuk preparasi sediaan. RSM merupakan metode optimasi yang populer dalam pengembangan proses dan produk baru, optimasi kualitas dan penampilan produk dan dapat meminimalkan biaya produksi di Industri (Granato *et al.*, 2010; Nursal *et al.*, 2019). Jumlah bawang putih, jahe merah ditentukan mengikuti aturan penggunaan herbal tersebut sebagai minuman kesehatan (EMA, 2012; 2016) dan sudah dikonversikan dalam aturan penggunaan dari jumlah yang dibuat. Variabel bebas ditentukan dalam rentang batas bawah-batas atas sesuai persyaratan penggunaan dalam sediaan. Tahap selanjutnya ditentukan desain *Box-Behnken* dari 3 faktor variabel bebas yaitu lemon, madu, dan HPMC. Desain menghasilkan 15 formula dan dilakukan pengamatan respon meliputi nilai pH, viskositas, volume sedimentasi, dan redispersibilitas pada suhu ruang ($\pm 30^\circ\text{C}$) selama 7 hari.

Data pada Tabel 2 menunjukkan faktor jumlah HPMC dan madu sangat mempengaruhi viskositas dan redispersibilitas, namun nilai pH tidak terlalu berpengaruh dengan jumlah lemon. Konsistensi suspensi sangat encer ketika jumlah HPMC digunakan pada batas bawah (0,25%) dan sangat kental apabila jumlah HPMC paling tinggi (5%). Jumlah madu yang ditambahkan ke dalam suspensi juga memberikan pengaruh viskositas pada sediaan, dan nilai

redispersibilitas 0 artinya tidak ada yang terendapkan. Terbentuknya *caking* pada beberapa sediaan yang dilakukan dengan mengocok sediaan secara konstan, mengindikasikan terbentuknya endapan herbal (jahe dan bawang putih) sehingga butuh pengocokan lebih kuat (lebih dari 30 kali). Hasil optimasi kedua dari penentuan 3 faktor dengan sasaran respon yang diinginkan, yang diolah menggunakan perangkat lunak *Design-Expert* mendapatkan satu formula yang disarankan oleh sistem. Adapun rancangan optimasi formula suspensi polih herbal dengan batasan yang ditetapkan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Rancangan formula suspensi polih herbal menggunakan desain *Box-Behnken* dengan variabel hidroksipropil metil selulosa (HPMC), lemon, dan madu terhadap parameter viskositas, volume sedimentasi, dan redispersibilitas.

DE	Std	Run	Faktor			Respon			
			A: HPMC (%)	B: Lemon (g)	C: Madu (g)	pH	Viskositas (cPs)	Vol. sedimentasi	Redis- persibilitas (%)
1	1	10	2,625	2	3	3,81 ± 0,01	354,0 ± 33,0	0,397 ± 0,00	<i>caking</i>
2	4	4	2,625	1,1	6,5	4,11 ± 0,01	524,0 ± 16,9	0,536 ± 0,02	<i>caking</i>
3	2	7	2,625	1,1	6,5	4,05 ± 0,01	493,0 ± 77,8	0,532 ± 0,02	<i>caking</i>
4	14	1	0,25	0,2	6,5	4,22 ± 0,14	12,2 ± 0,2	0,339 ± 0,01	<i>caking</i>
5	6	15	0,25	1,1	10	3,83 ± 0,01	16,0 ± 0,0	0,408 ± 0,03	90%
6	12	8	2,625	0,2	3	4,44 ± 0,01	283,2 ± 12,2	0,400 ± 0,02	<i>caking</i>
7	15	3	5	0,2	6,5	4,36 ± 0,02	4540,0 ± 594,0	0,980 ± 0,00	77
8	9	13	0,25	1,1	3	4,05 ± 0,03	9,2 ± 0,2	0,360 ± 0,00	90
9	3	14	2,625	1,1	6,5	4,11 ± 0,01	536,0 ± 36,1	0,546 ± 0,00	<i>caking</i>
10	10	5	5	1,1	3	4,14 ± 0,04	2828,0 ± 382,6	0,890 ± 0,08	<i>caking</i>
11	11	6	2,625	2	10	4,19 ± 0,02	2950,0 ± 537,4	0,935 ± 0,08	85
12	8	9	0,25	2	6,5	3,75 ± 0,01	13,9 ± 0,7	0,320 ± 0,02	<i>caking</i>
13	5	12	5	1,1	10	3,97 ± 0,03	14873,3 ± 1077,5	0,820 ± 0,00	100
14	13	2	5	2	6,5	3,86 ± 0,01	6530,0 ± 1569,8	1,000 ± 0,00	0
15	7	11	2,625	0,2	10	4,11 ± 0,03	2456,7 ± 359,2	0,988 ± 0,01	95

Tabel 3. Rancangan optimasi formula suspensi polih herbal menggunakan *Design-Expert* dengan batasan yang ditetapkan.

Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
A: HPMC	<i>is in range</i>	0,25	5	1	1	4
B: Lemon	<i>is in range</i>	0,2	2	1	1	3
C: Madu	<i>is target = 4,7</i>	3	10	1	1	4
Viskositas	<i>is in range</i>	300	600	1	1	3
pH	<i>is in range</i>	3,75	4,44	1	1	3
Redispersibilitas	<i>maximize</i>	0	1	1	1	5

Hasil analisis statistik untuk masing-masing respon viskositas, pH, dan redispersibilitas dapat terlihat pada Tabel 4 dan Gambar 1. Hasil pengolahan data diperoleh model berserta uji signifikansinya (*p-value*) dan kesesuaian model regresi (*lack of fit*). Model terpilih digunakan untuk menganalisis variabel berdasarkan hasil signifikansi pada ANOVA dan non signifikansi pada *lack of fit*. Tabel 4 menunjukkan hasil analisis statistik pada parameter viskositas. Model yang disarankan berupa kuadratik dengan nilai *adjusted R²* sebesar 0,8422 dan *predicted R²* sebesar 0,0986. Selisih dari keduanya lebih dari 0,2 yang menunjukkan kemungkinan ada efek blok yang besar atau masalah dengan model dan/atau data. Sedangkan, nilai *adeq precision*

sebesar 10,994 (> 4) menunjukkan sinyal yang memadai sehingga model masih dapat digunakan untuk menavigasi ruang desain. Pada hasil analisis, nilai F model sebesar 9,30 mengimplikasikan model tersebut signifikan dengan 1,22% kemungkinan diakibatkan oleh *noise*. Nilai *p-value* model 0,0122 ($<0,05$) juga menunjukkan model tersebut signifikan. Dalam hal ini, variabel A (HPMC), C (madu), AC (HPMC-madu), dan A^2 (HPMC-HPMC) adalah variabel yang signifikan terhadap parameter viskositas. Sementara nilai F *lack of fit* sebesar 8383,58 mengimplikasikan signifikan dengan 0,01% kemungkinan diakibatkan oleh *noise*.

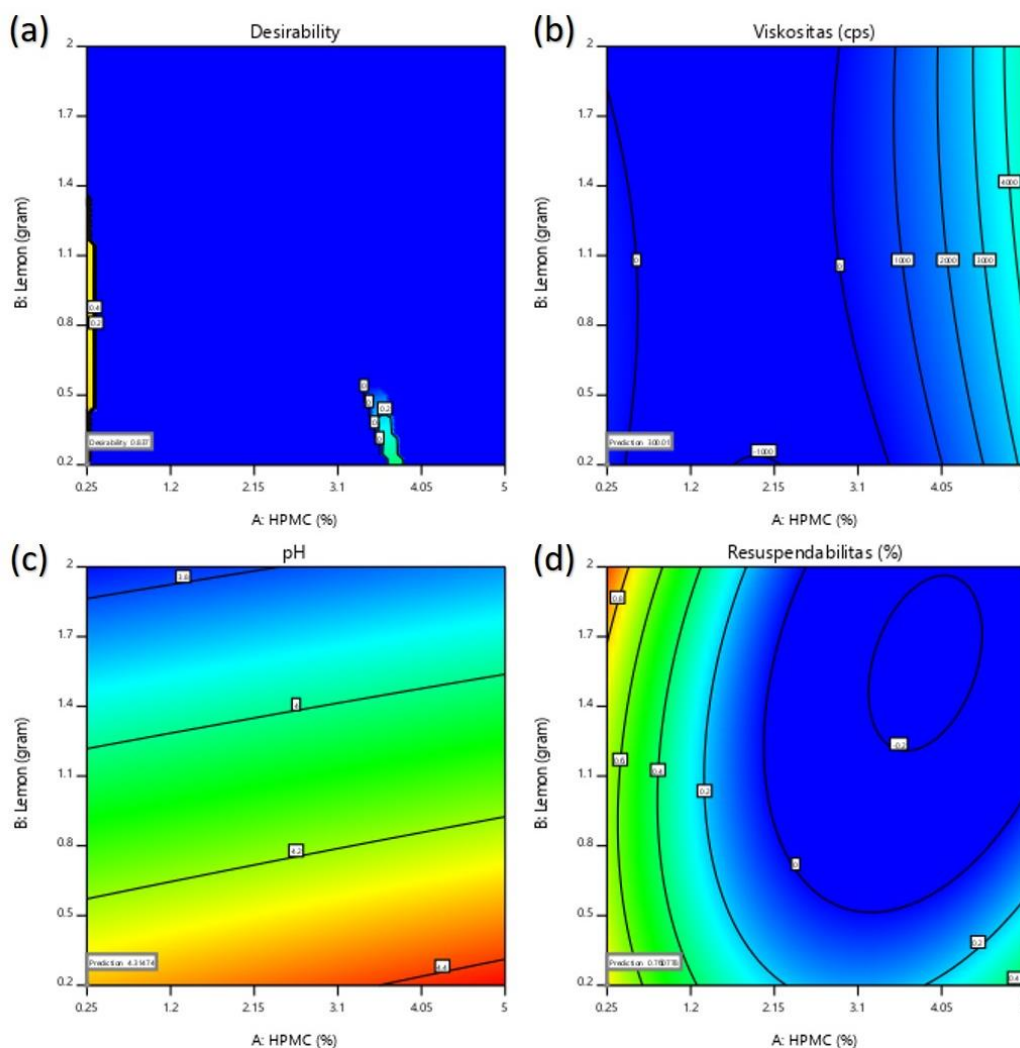
Tabel 4. Hasil analisis statistik desain *Box-Behnken* pada parameter viskositas, pH, dan redispersibilitas. Keterangan : * *p-value* $< 0,05$.

Faktor		Viskositas	pH	Redispersibilitas
A-HPMC	Koefisien	3590,00	0,0600	-0,2137
	<i>p-value</i>	0,0013*	0,1502	0,0155*
B-Lemon	Koefisien	319,47	-0,1900	-0,1112
	<i>p-value</i>	0,5907	0,0010*	0,1199
C-Madu	Koefisien	2102,70	-0,0425	0,3500
	<i>p-value</i>	0,0129*	0,2924	0,0020*
AB	Koefisien	497,07	-0,0075	-0,1875
	<i>p-value</i>	0,5553	0,8916	0,0759
AC	Koefisien	3009,62	0,0125	0,2500
	<i>p-value</i>	0,0123*	0,8206	0,0309*
BC	Koefisien	105,63	0,1775	-0,0250
	<i>p-value</i>	0,8985	0,0104*	0,7779
A^2	Koefisien	2588,50		0,4312
	<i>p-value</i>	0,0251*		0,0043*
B^2	Koefisien	-332,15		0,1813
	<i>p-value</i>	0,7018		0,0928
C^2	Koefisien	1325,45		0,2687
	<i>p-value</i>	0,1665		0,0276*
Intercept		517,67	4,07	0,0000
Degree of freedom		9	6	9
Sum of squares		2,074E+08	0,4589	2,79
Mean of squares		2,305E+07	0,0765	0,3105
F-value		9,30	6,72	11,01
<i>p-value</i>		0,0122	0,0085	0,0083
R^2		0,9437	0,8345	0,9520

Hasil analisis statistik pada parameter pH dapat dilihat pada Tabel 4. Model yang disarankan berupa 2FI dengan nilai *adjusted R²* sebesar 0,7104 dan *predicted R²* sebesar 0,1493. Selisih dari keduanya lebih dari 0,2 yang menunjukkan kemungkinan ada efek blok yang besar atau masalah dengan model dan/atau data. Sedangkan, nilai *adeq precision* sebesar 10,088 (> 4) menunjukkan sinyal yang memadai sehingga model masih dapat digunakan untuk menavigasi ruang desain. Pada hasil analisis, nilai F model sebesar 6,72 mengimplikasikan model tersebut signifikan dengan 0,85% kemungkinan diakibatkan oleh *noise*. Nilai *p-value* model 0,0085 ($<0,05$) juga menunjukkan model tersebut signifikan. Dalam hal ini, variabel B (lemon) dan BC (lemon-madu) adalah variabel yang signifikan terhadap parameter pH. Selain

itu, nilai *F lack of fit* sebesar 12,31 mengimplikasikan signifikan dengan 7,70% kemungkinan diakibatkan oleh *noise*.

Tabel 4 menunjukkan hasil analisis statistik pada parameter redispersibilitas. Model yang disarankan berupa kuadratik dengan nilai *adjusted R²* sebesar 0,8655 dan *predicted R²* sebesar 0,2314. Selisih dari keduanya lebih dari 0,2 yang menunjukkan kemungkinan ada efek blok yang besar atau masalah dengan model dan/atau data. Sedangkan, nilai *adeq precision* sebesar 8,751 (> 4) menunjukkan sinyal yang memadai sehingga model masih dapat digunakan untuk menavigasi ruang desain. Pada hasil analisis, nilai *F* model sebesar 11,01 mengimplikasikan model tersebut signifikan dengan 0,83% kemungkinan diakibatkan oleh *noise*. Nilai *p-value* model 0,0083 ($< 0,05$) juga menunjukkan model tersebut signifikan. Dalam hal ini, variabel A (HPMC), C (madu), AC (HPMC-madu), A^2 (HPMC-HPMC), dan C^2 (madu-madu) adalah variabel yang signifikan terhadap parameter redispersibilitas.



Gambar 1. Grafik kontur dua dimensi desirabilitas (a) dan pengaruh variabel bebas (jumlah lemon, madu, dan HPMC) terhadap respon viskositas (b) pH (c) dan redispersibilitas (c).

Gambar 1 menunjukkan grafik kontur dua dimensi dari desirabilitas dan pengaruh variabel bebas terhadap respon. Hasil analisis dari optimasi proses akan menghasilkan nilai d sebagai desirabilitas. Nilai d yang mendekati 1 menunjukkan hasil evaluasi respon semakin memperlihatkan nilai sebenarnya dan memperlihatkan kombinasi formula yang paling optimal (Sunnah *et al.*, 2019). Hasil desirabilitas yang diperoleh pada penelitian ini sebesar 0,837 dengan komponen HPMC 0,25% dan lemon 0,2 g. Sebagian besar desirabilitas yang ditunjukkan pada Gambar 1a mendekati nilai 0,0 dan hanya sedikit yang mendekati nilai 1. Grafik kontur pengaruh variabel bebas terhadap viskositas pada Gambar 1b-d memperlihatkan variasi warna yang lebih banyak yang menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi HPMC maupun lemon yang dimasukkan kedalam formula suspensi polih herbal akan menghasilkan nilai respon (viskositas, pH, dan redispersibilitas) yang berbeda pula.

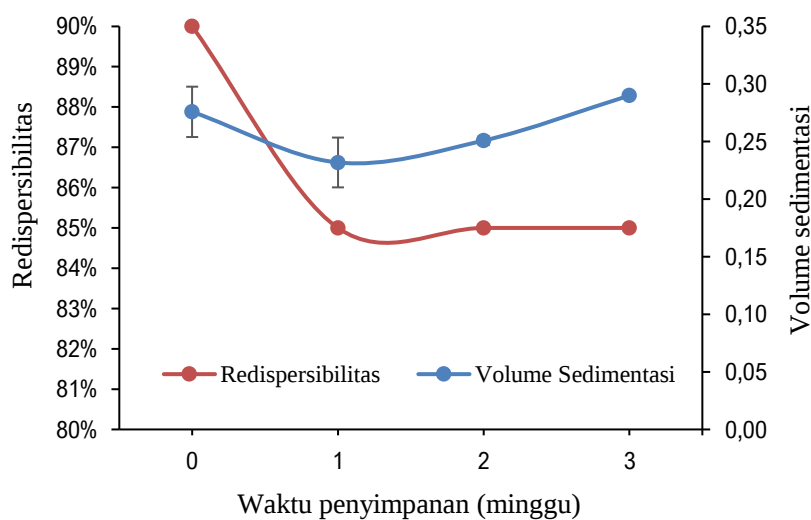
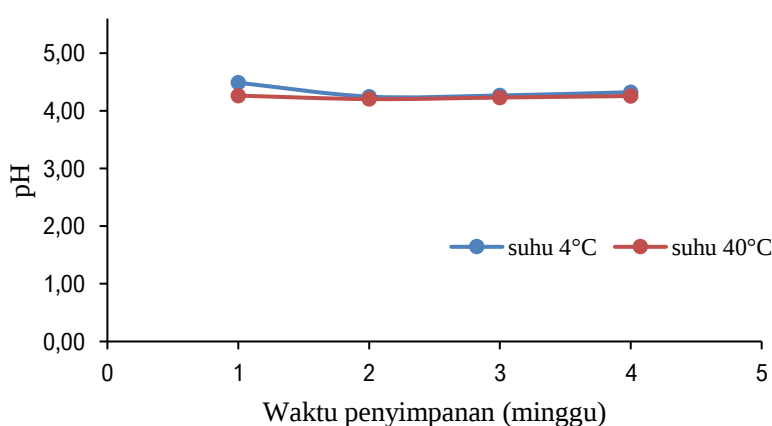
Hasil klasifikasi respon, terlihat pada masing-masing kontur menampakkan pengaruh faktor jumlah lemon, madu dan HPMC terhadap nilai viskositas, pH, dan redispersibilitas suspensi. Hasil pengamatan terhadap suspensi dilakukan berdasarkan perkiraan pemodelan DE. Dari nilai faktor dan respon yang diharapkan, terpilih satu formula dengan komposisi berikut: HPMC 0,25%, lemon 0,2 g dan madu 4,6 g dan nilai respon viskositas 300 Cp dan pH 4,3. Terhadap sediaan dilakukan pengamatan stabilitas fisik selama 4 minggu pada suhu ruang meliputi organoleptis, pH, viskositas, volume sedimentasi dan redispersibilitas. Suspensi juga diamati perubahan selama penyimpanan pada 2 suhu (4°C dan 45°C) dengan mengamati organoleptis, pH dan viskositas.

3.2. Pengujian stabilitas fisik suspense

Hasil pengamatan suspensi pertama dilakukan saat waktu awal (T_0) dan dilanjutkan pada minggu ke-1 (T_1) hingga minggu ke-4 (T_4) dengan siklus 7 hari (Tabel 5). Evaluasi kestabilan fisik sediaan penyimpanan suhu ruang memenuhi kriteria jika dilihat dari nilai pH, volume sedimentasi dan redispersibilitas, walau demikian perbedaan signifikan muncul untuk viskositas yaitu dibawah 50 cps dari nilai prediksi 300-600 cps dan konsistensi sediaan sangat encer. Hal ini diduga karena dari hasil desain konsentrasi HPMC terpilih berada pada nilai terendah tidak cukup memberikan viskositas pada sediaan. Penambahan madu diharapkan sebagai salah satu upaya peningkatan konsistensi, serta kandungan glukosa dan fruktosa dapat mempengaruhi rasa sediaan. Lemon yang digunakan dalam 3 konsentrasi memberikan nilai pH dengan rentang 4,26–4,49 pada ketiga suhu, menandakan tidak terlihat perbedaan jauh dari jumlah lemon yang ditambahkan. Hasil seperti terlihat pada Gambar 3.

Tabel 5. Evaluasi formula optimum suspensi polih herbal sebelum proses penyimpanan saat waktu awal (T₀).

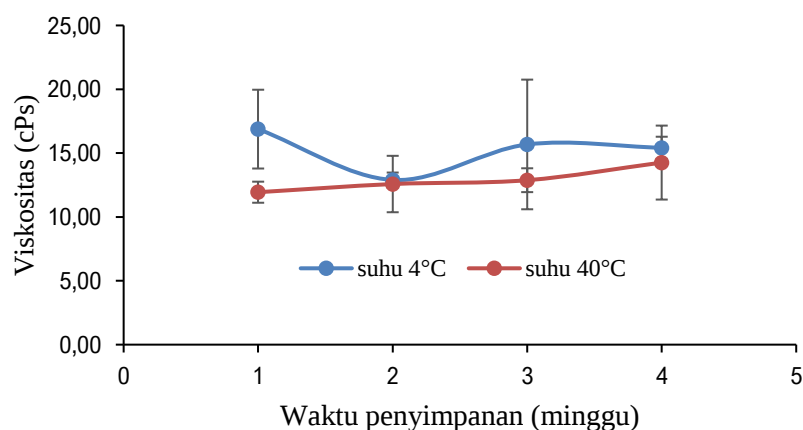
Parameter	Hasil
pH	4,31±0,04
Viskositas (cps)	11,08±0,09
Organoleptik	warna: kuning kecoklatan rasa: manis asam bau: khas bawang putih

**Gambar 2.** Nilai volume sedimentasi dan redispersibilitas suspensi polih herbal yang teramati selama penyimpanan 4 minggu pada suhu ruang.**Gambar 3.** Nilai pH suspensi polih herbal yang teramati selama penyimpanan 4 minggu pada suhu 4°C dan 45°C.

Sediaan tidak mengalami perubahan bau, warna, dan rasa selama penyimpanan pada ketiga suhu sehingga bisa dikategorikan stabil secara organoleptis. Suspensi dikatakan stabil apabila zat yang tersuspensi tidak cepat mengendap, mudah terdispersi kembali menjadi campuran yang homogen dan viskositas sedang agar mudah dituang dari wadah (Ansel *et al.*, 2014; Anjani *et al.*, 2011). Peranan *suspending agent* sangat mempengaruhi konsistensi dan

viskositas suspensi sehingga memang perlu dilakukan pengujian khusus terkait faktor tersebut (Anjani *et al.*, 2011). Peningkatan konsentrasi peng suspensi yang dapat meningkatkan viskositas, secara langsung akan berdampak juga terhadap volume sedimentasi dan kemampuan tersuspensikan kembali dengan mudah (Nadaf *et al.*, 2014). Perubahan nilai pada redispersibilitas dan volume sedimentasi suspensi polih herbal selama penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna redispersibilitas selama proses pengujian.

Nilai pH sediaan yang disimpan pada suhu 4°C dan 45°C selama 4 minggu menyatakan ada perbedaan pH berdasarkan waktu simpan ($p < 0,05$) dan perbedaan pH berdasarkan suhu simpan ($p < 0,05$). Hasil analisis juga menguatkan adanya interaksi waktu dan suhu terhadap pH ($p < 0,05$).



Gambar 4. Nilai viskositas suspensi polih herbal yang teramati selama penyimpanan 4 minggu pada suhu 4°C dan 45°C.

Nilai viskositas yang teramati selama penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 4. Analisis statistik terhadap nilai viskositas sediaan selama 4 minggu pada 2 suhu, tidak ada perbedaan viskositas berdasarkan waktu simpan ($p > 0,05$). Pengaruh suhu memberikan pengaruh terhadap perbedaan viskositas ($p < 0,05$). Hasil interaksi suhu dan waktu tidak bermakna ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada interaksi waktu simpan dengan suhu simpan terhadap viskositas sediaan.

Titik kritis yang perlu diperhatikan adalah penentuan nilai batas bawah dan batas atas dari variabel yang berpengaruh agar pengukuran riil mendekati sasaran. Hal yang juga perlu dipertimbangkan adalah menambahkan faktor proses preparasi, seperti kecepatan dan waktu pengadukan terhadap respon yang diukur. HPMC sebagai peng suspensi perlu dilakukan terkait waktu dan jumlah air yang ditambahkan karena mempengaruhi dispersibilitas HPMC dalam perannya sebagai peng suspensi. Tahap selanjutnya perlu digunakan jenis peng suspensi lainnya sebagai pembanding dari HPMC yang telah digunakan dalam penelitian ini.

4. Kesimpulan

Kombinasi bawang putih, jahe merah, dan lemon dapat dikembangkan sebagai suspensi polih herbal obat terstandar sebagai antihiperlipidemia dengan memperhatikan komponen penyusun sediaan terutama yang mempengaruhi viskositas. Studi stabilitas fisik suspensi secara organoleptis tidak mengalami perubahan selama penyimpanan di tiga suhu. Perlu dilakukan rancangan eksperimental dengan mempertimbangkan faktor dan respon yang diharapkan. Perlu dilakukan identifikasi terhadap komponen yang digunakan dalam sediaan, seperti madu yang menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi respon. Data stabilitas dilanjutkan dengan pengujian kimia dan mikrobiologi untuk memenuhi persyaratan mutu sebagai obat herbal terstandar. Pengujian efek sediaan sebagai antihiperlipidemia juga perlu dibuktikan secara *in-vivo*.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka yang telah memberikan bantuan dana penelitian melalui hibah internal periode Batch 1 tahun 2020 dengan nomor kontrak 235/F.03.07/2021.

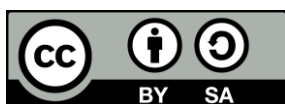
Deklarasi Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

Daftar Pustaka

- Abdillah A.M., Sulaeman A., dan Sinaga T. (2020). Perceptions and lipid profiles of mixed herbal drink (garlic, ginger, lemon, honey, and apple vinegar). *Media Gizi Indonesia (National Nutrition Journal)*. 15(3): pp.167–172. 10.204736/mgi.v15i3.
- Anjani, M.R., Kusumowati, I. T. D., Indrayidha, P., dan Sukmawati, A. (2011). Formulasi suspensi siprofloksasin dengan *suspending agent* puvis gummi arabica dan daya antibakterinya. *Pharmacon*, 12(1): pp.26-32. 10.23917/pharmacon.v12i1.45.
- Ansel, H.C., Nicholas G.P., dan Loyd V.A. (2014). *Disperse System in Liquid Dosage Forms, Pharmaceutical Dosage Forms and Drugs Delivery Systems 10th edition*, p. 445-465. Philadelphia- USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- BPPS. (2017). *Info Komoditi Tanaman Obat* (Z. Salim dan E. Munadi (eds.)). Jakarta: Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan Kementerian Perdagangan RI.
- BPS. (2018). *Statistik Tanaman Biofarmaka Indonesia 2018*. Jakarta. Badan Pusat Statistik RI.
- BPOM. (2018). *Pedoman Uji Stabilitas Obat Tradisional dan Suplemen Kesehatan. Badan Pengawas Obat dan Makanan* 23(3):14–8. Available from: <https://jdih.pom.go.id/rancanganpublikshowpdf.php?u=6tPStkJYqaw%2FM9KiYWmce88n6S%2B3hw%2F5wR82c%2BU%2Bmfg%3D> (Diakses tanggal 9 Maret 2021).
- BPPK. (2010). *Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Tahun 2010*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Ermawati, D. E., dan Prilantari, H. U. (2018). Pengaruh kombinasi polimer hidroksipropil-metilselulosa dan natrium karboksimetilselulosa terhadap sifat fisik sediaan matrix-based patch ibuprofen. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 4(2):

- pp.109-119. 10.20961/jpscr.v4i2.34525.
- EMA (European Medicines Agency). (2012). *Community Herbal Monograph on Zingiber Officinale Roscoe, Rhizoma*. EMA/HMPC/749154/2010 Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/final-community-herbal-monograph-zingiber-officinale-roscoe-rhizoma_en.pdf (Diakses tanggal 9 Maret 2021).
- EMA (European Medicines Agency). (2016). *Assessment report on Allium sativum L., bulbus*. EMA/HMPC/7686/2013 Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/draft-assessment-report-allium-sativum-l-bulbus_en.pdf (Diakses tanggal 9 Maret 2021).
- Delima, Widowati, L., Astuti, Y., Siswoyo, H., Gitawati, R., dan Purwadianto, A. (2012). Gambaran Praktik Penggunaan Jamu oleh Dokter di Enam Provinsi di Indonesia. *Buletin Penelitian Kesehatan*, 40(3): pp.109–122.
- Gitawati, R., Widowati, L., dan Suharyanto, F. (2015). Penggunaan jamu pada pasien hiperlipidemia berdasarkan data rekam medik, di beberapa fasilitas pelayanan kesehatan di Indonesia. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 5(1): pp.41–48. 10.22435/jki.v5i1.3474.
- Granato, D., Ribeiro, J.C.B., Castro, I.A., dan Masson, M.L. (2010). Sensory evaluation and physicochemical optimization of soy-based desserts using response surface methodology. *Food Chemistry*, 121: pp.899-906. 10.1590/S0101-20612012005000004.
- Kementerian Pertanian RI. (2020). *Manis dan Segarnya Budidaya Jeruk Lemon*. <https://www.pertanian.go.id/home/?show=news&act=view&id=3843> (Diakses tanggal 9 Maret 2021).
- Nadaf, S. J., Mali, S. S., Salunkhe, S.S., dan Kamble, P.M. (2014). Formulation and evaluation of ciprofloxacin suspension using natural suspending agent. *Int. Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*, 5(3): 63-70.
- Nirvana, S. J., Widiyani, T., dan Budiharjo, A. (2020). Antihypercholesterolemia activities of red ginger extract (*Zingiber officinale* Roxb. var *rubrum*) on wistar rats. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 858(1), p. 012025. IOP Publishing. 10.1088/1757-899X/858/1/012025.
- Nursal, F.K., Sumirtapura, Y.C., Suciati, T., dan Kartasasmita, R.E. (2019). Optimasi nanoemulsi natrium askorbil fosfat melalui pendekatan design of experiment (metode box behnken). *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*, 6(3): pp.228-236. 10.25077/jsfk.6.3.228-236.2019.
- Ried, K., Toben, C., dan Fakler, P. (2013). Effect of garlic on serum lipids : an updated meta-analysis. *Nutrition reviews*, 71(5): pp.282–299. 10.1111/nure.12012.
- Sunnah, I., Erwiyani, A. R., Pratama, N. M., dan Yunisa, K. O. (2019). Efektivitas komposisi polivinil alkohol, propilenglikol dan karbomer terhadap optimasi masker gel peel-off nano ekstrak daging buah labu kuning (*Cucurbita maxima* D). *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 4(2): pp.82-94. 10.20961/jpscr.v4i2.34399.





Aktivitas Anti-Inflamasi Minyak Herbal Tradisional Dari Bahan Usada Bali Pada Mencit Inflamasi Yang Diinduksi Karagenan

Putu Era Sandhi Kusuma Yuda*, I Made Agus Mahardika, Erna Cahyaningsih, Maria Malida Vernandes Sasadara, Ni Made Dwi Mara Widyani Nayaka dan Ni Luh Kade Arman Anita Dewi

Departemen Farmasi Bahan Alam, Fakultas Farmasi, Universitas Mahasaraswati Denpasar, Jl. Kamboja No.11A Denpasar, Indonesia, 80233.

*email korespondensi: erasandhi@unmas.ac.id

Received 06 April 2022, Accepted 26 November 2022, Published 30 November 2022

Abstrak: Peradangan sendi atau artritis merupakan salah satu penyakit inflamasi kronis yang memerlukan penggunaan obat jangka panjang. Penggunaan obat artritis seperti metotreksat dan NSAID dalam waktu lama dapat menimbulkan berbagai efek samping serius, sehingga diperlukan alternatif pengobatan yang relatif lebih aman terutama dari bahan herbal. Penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas anti-inflamasi minyak herbal tradisional Usada Bali dari bahan Jahe (*Zingiber officinale*), Kunyit (*Curcuma longa*), Kencur (*Kaemferia galanga*), Bangle (*Zingiber montanum*), Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dan Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) pada mencit inflamasi yang diinduksi karagenan melalui pengujian secara topikal. Mencit dibagi empat kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol negatif (pembawa), kontrol positif (Natrium Diklofenak topikal), minyak herbal 150 dan 300 mg/ml. Volume peradangan kaki mencit diukur dengan alat pletismometer setiap jam selama empat jam setelah diinduksi dengan karagenan 0,5% (b/v) subplantar, kemudian diuji secara statistik (*Mann-Whitney*) dengan taraf kepercayaan 95%. Skrining fitokimia menunjukkan bahwa minyak herbal mengandung senyawa flavonoid, terpenoid dan steroid. Hasil uji aktivitas anti-inflamasi menunjukkan adanya penghambatan peradangan yang signifikan ($p < 0,05$) oleh minyak herbal konsentrasi 150 mg/ml maupun 300 mg/ml dengan persentase penghambatan pada jam ke-4 masing-masing sebesar 16,52% dan 11,30%, serta tidak berbeda bermakna dibandingkan kontrol positif ($p > 0,05$). Hasil tersebut menunjukkan adanya potensi minyak herbal Usada Bali sebagai anti-inflamasi topikal.

Kata kunci: anti-inflamasi; minyak herbal; obat tradisional; Usada Bali

Abstract. Anti-Inflammatory Activity of Traditional Herbal Oil From Balinese Traditional Medicine In Caragenan-Induced Inflammatory Mice. Joint inflammation or arthritis is a chronic inflammatory disease that requires long-term use of medications. The use of arthritis drugs such as methotrexate and NSAIDs for a long time can cause serious side effects. Therefore, a safer alternative treatment is needed, especially from herbal ingredients. This study aimed to examine the potential anti-inflammatory activity of Usada Bali's traditional herbal oils from Ginger (*Zingiber officinale*), Turmeric (*Curcuma longa*), Kencur (*Kaemferia galanga*), Bangle (*Zingiber montanum*), Clove (*Syzygium aromaticum*) and Cinnamon (*Cinnamomum burmanii*) in mice with carrageenan-induced inflammation through topical evaluation. Mice were divided into four groups, namely negative control group (vehicle), positive control group (topical diclofenac sodium), herbal oil 150 and 300 mg/ml. The inflammation volume of mice paw edema was measured with a plethysmometer every hour for four hours after being induced with carrageenan 0,5% (w/v), then tested statistically (*Kruskal wallis and Mann-Whitney*) with a 95% confidence level. The results of the phytochemical screening showed that the tested herbal oils contained flavonoid, terpenoid and steroid

compounds. The results of the anti-inflammatory activity test showed that there was a significant inhibition of inflammation ($p < 0,05$) by herbal oils at concentrations of 150 mg/ml and 300 mg/ml at 4 hours (inhibition of 16,52% and 11,30% respectively) and were not different compared to positive controls ($p > 0,05$). These results indicate the potential of Usada Bali herbal oil as a topical anti-inflammatory.

Keywords: anti-inflammation; herbal oil; traditional medicine; Usada Bali

1. Pendahuluan

Arthritis atau yang lebih sering dikenal dengan rematik adalah peradangan atau inflamasi pada sendi yang disertai dengan destruksi osteokondral yang dapat terjadi dalam berbagai bentuk, termasuk osteoarthritis (OA), rheumatoid arthritis (RA), dan radang sendi psoriasis (Tateiwa *et al.*, 2019). Rheumatoid arthritis (RA) adalah penyakit autoimun yang melibatkan banyak sendi secara bilateral yang ditandai dengan peradangan pada tendon (tenosinovitis) yang mengakibatkan kerusakan tulang rawan dan erosi tulang (Lin *et al.*, 2020). Studi metabolomik cairan tubuh menunjukkan bahwa penyakit rheumatoid arthritis (RA) berhubungan dengan gangguan metabolisme yang ditandai dengan adanya peningkatan kebutuhan bioenergi dan biosintetik dari peradangan berkelanjutan dan perubahan ketersediaan nutrisi serta oksigen pada jaringan sendi yang rusak (Falconer *et al.*, 2018). Sebagian besar bukti ilmiah yang berasal dari studi genetika, analisis jaringan dan studi klinis menunjukkan bahwa etiologi dari peradangan sendi pada RA terkait dengan disregulasi jaringan stroma yang bersama-sama memicu terjadinya peradangan kronis dan kerusakan artikular (Firestein & McInnes, 2017).

Diagnosis dini rheumatoid arthritis memungkinkan pengobatan lebih dini dengan agen antirematik yang dapat meringankan gejala penyakit, dimana kombinasi obat sering digunakan untuk mengendalikan penyakit ini. Methotrexate (MTX) biasanya merupakan obat lini pertama yang digunakan untuk rheumatoid arthritis dimana tujuan pengobatannya adalah meminimalkan nyeri dan pembengkakan sendi, pencegahan kerusakan dan deformitas serta memperlancar aktivitas fisik pribadi pasien (Wasserman, 2011). Beberapa pasien yang diobati dengan MTX dilaporkan mengalami efek samping mukosa, gastrointestinal, serta gangguan fungsi hati dan hematologi (Shea *et al.*, 2013). Selain itu obat anti-inflamasi non-steroid (AINS) saat ini sering digunakan untuk meringankan nyeri dan inflamasi pada pasien yang mengalami artritis. Obat anti-inflamasi non steroid diketahui memiliki beberapa efek samping yang signifikan terutama pada penggunaan jangka waktu lama seperti komplikasi gastrointestinal, kardiovaskular, hati, ginjal, serebral dan paru-paru (Bindu *et al.*, 2020). Pengobatan konvensional yang digunakan saat ini untuk mengatasi peradangan atau inflamasi mulai dari obat penghilang rasa sakit hingga agen biologis telah digunakan secara luas, tetapi sering dikaitkan dengan adanya efek samping yang serius, bahkan mengancam jiwa. Di sisi lain, jamu

tradisional, termasuk tanaman obat yang telah digunakan ratusan tahun merupakan alternatif yang menjanjikan dengan tingkat efek samping yang relatif lebih rendah dibandingkan dengan obat konvensional walaupun beberapa mekanisme kerjanya masih belum dapat dipastikan (Dragos *et al.*, 2017). Beberapa pengujian klinis menunjukkan bahwa pemberian herbal dapat memperbaiki gejala OA dan RA, nyeri, dan peradangan serta menunjukkan aktivitas anti-inflamasi dan anti-oksidan yang kuat dan berkontribusi pada pengurangan peradangan dan kerusakan jaringan (Lindler *et al.*, 2020). Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian yang lebih intensif untuk menemukan bahan-bahan alami yang dapat digunakan untuk membantu penanganan inflamasi pada pasien yang mengalami peradangan sendi khususnya dari warisan pengobatan tradisional yang telah digunakan secara empiris.

Usada Bali merupakan salah satu warisan pengobatan tradisional Bali yang memuat berbagai tanaman obat serta tata cara pengobatan penyakit. Berdasarkan hasil observasi serta wawancara dengan pengobat tradisional Usada Bali di wilayah Gianyar, Bali, diketahui bahwa terdapat ramuan tradisional Usada Bali yang dapat digunakan untuk mengatasi peradangan atau inflamasi pada kondisi rematik. Obat tersebut biasanya dibuat dalam bentuk minyak untuk dioleskan atau diurutkan pada bagian yang sakit. Bahan yang digunakan untuk pembuatannya adalah minyak kelapa, Jahe (*Zingiber officinale*), Kunyit (*Curcuma longa*), Kencur (*Kaemferia galanga*), Bangle (*Zingiber montanum*), Cengkeh (*Syzigium aromaticum*) dan kulit batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*). Namun saat ini, data ilmiah mengenai khasiat ramuan tersebut dalam bentuk minyak herbal sebagai anti-inflamasi masih terbatas. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan penelitian untuk menguji aktivitas anti-inflamasi dari ramuan tradisional tersebut secara topikal pada mencit inflamasi yang diinduksi karagenan.

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan

Rimpang Jahe, Rimpang Kunyit, Rimpang Kencur, Rimpang Bangle, Kulit Batang Kayu Manis dan Bunga Cengkeh diperoleh di daerah Denpasar-Bali, kloroform (Merck, Jerman), amoniak (Bratachem, Indonesia), asam sulfat (Merck, Jerman), etanol (Bratachem, Indonesia), asam hidroklorida (Merck, Jerman), asam asetat anhidrat (Merck, Jerman), metanol (Merck, Jerman), karagenan (Sigma Aldrich; St. Louis, MO), minyak kelapa (Bali Sehat, Indonesia) aquadest, *hot plate* dan pletismometer (Orchid, India).

2.2. Metode

2.2.1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia yang bertempat di UPT Balai Konservasi Tanaman Kebun Raya Eka Karya Bali. Determinasi ini dilakukan untuk memastikan kebenaran identitas tanaman yang digunakan dalam penelitian.

2.2.2. Pembuatan simplisia

Rimpang Kunyit (1 kg), rimpang Jahe (1 kg), rimpang Kencur (1 kg), rimpang Bangle (1 kg), bunga Cengkeh (0,5 kg) dan kulit Kayu Manis (0,5 kg) disortasi basah, dibersihkan, kemudian dicuci dengan air mengalir, dan dikeringkan dengan diangin-anginkan di tempat teduh tanpa terkena sinar matahari. Proses pengeringan dihasilkan 403 g simplisia Kunyit, 397 g simplisia Jahe, 342 g simplisia Kencur, 331 g simplisia Bangle, 280 g simplisia Cengkeh dan 291 g simplisia Kayu Manis. Setelah kering, selanjutnya disortasi kering untuk memisahkan bahan atau benda asing pada simplisia, kemudian simplisia dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk halus lalu dimasukkan ke dalam wadah tertutup rapat.

2.2.3. Pembuatan minyak herbal

Serbuk simplisia yang terdiri dari Jahe, Kunyit, Kencur, Bangle, Kayumanis dan Cengkeh dicampur dengan perbandingan yang sama dalam minyak kelapa (konsentrasi 150 mg/ml dan 300 mg/ml) dalam gelas beaker kemudian dipanaskan di atas *hot plate* selama empat jam pada suhu 50°C. Konsentrasi 150 mg/ml dibuat dengan mencampurkan masing-masing simplisia sebanyak 2,5 g dalam 100 ml minyak kelapa sedangkan untuk konsentrasi 300 mg/ml dibuat dengan mencampurkan masing-masing simplisia sebanyak 5 g dalam 100 ml minyak kelapa. Campuran didinginkan dan didiamkan terendam (maserasi) selama tiga hari dan diaduk satu kali setiap hari. Setelah tiga hari minyak herbal disaring dengan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari ampasnya.

2.2.4. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap minyak herbal meliputi uji alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, tannin dan saponin dengan prosedur yang digunakan oleh (Sastrawan *et al.*, 2013).

2.2.5. Uji aktivitas anti-inflamasi

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan rancangan penelitian *randomized pre-test and post-test with control group design*. Penelitian ini menggunakan mencit jantan putih galur Swiss Webster dengan berat 18-25 g. Seluruh prosedur penelitian telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana (No.2019.01.2.0682). Sebelum dilakukan pengujian, mencit diadaptasi dengan

kondisi laboratorium selama tiga hari. Mencit dibagi menjadi empat kelompok yang masing-masing terdiri dari enam ekor mencit. Semua mencit diinduksi inflamasi dengan cara menginjeksikan sebanyak 0,05 mL larutan karagenan (0,5% b/v) dalam larutan salin secara subplantar. Kelompok kontrol positif diberi obat anti-inflamasi topikal Natrium Diklofenak. Kelompok kontrol negatif diberi minyak kelapa (pembawa), kelompok perlakuan 1 diberi minyak herbal 150 mg/ml dan kelompok perlakuan 2 diberi minyak herbal 300 mg/ml. Semua perlakuan diberikan dengan cara mengoleskan sediaan dengan menggunakan *cotton buds* dengan ukuran yang sama pada seluruh permukaan telapak kaki mencit yang inflamasi. Perlakuan diulang pada jam ke-0, 1, 2, dan 3 pada saat setelah selesai melakukan pengukuran edema dengan menggunakan alat pletismometer. Untuk meminimalkan adanya pengaruh variasi ukuran kaki mencit awal terhadap hasil volume peradangan, maka peradangan kaki mencit (*paw edema*) ditentukan dalam bentuk nilai volume peradangan kaki relatif yaitu volume pada saat pengukuran jam ke-n dibandingkan terhadap volume peradangan awal setelah injeksi dengan karagenan (V_n/V_0). Selain itu, persentase hambatan peradangan dapat dilihat pada Persamaan 1 (Lingadurai *et al.*, 2007).

$$\% \text{ hambatan peradangan} = \frac{(V_k - V_p)}{V_k} \times 100$$

Persamaan 1. Persentase hambatan peradangan. Keterangan = V_k adalah rata-rata volume peradangan relatif pada kelompok kontrol negatif dan V_p adalah rata-rata volume peradangan relatif pada kelompok perlakuan.

2.2.6. Analisis data

Uji *Kruskal-Wallis* digunakan untuk analisis perbedaan nilai volume peradangan relatif antar kelompok dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* dengan taraf kepercayaan 95%.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Determinasi tanaman komponen minyak herbal

Hasil identitas spesies dan suku didapatkan setelah dilakukan determinasi tanaman yang digunakan dalam pembuatan minyak herbal Tabel 1. Empat dari tanaman yang digunakan berasal dari suku *Zingiberaceae* dan masing-masing satu tanaman dari suku *Myrtaceae* dan *Lauraceae*.

3.2. Hasil pembuatan minyak herbal

Penelitian dibuat dengan dua macam sediaan minyak herbal yaitu dengan konsentrasi 150 mg/ml dan 300 mg/ml dengan hasil organoleptis seperti ditunjukkan pada Tabel 2. Kedua minyak herbal memiliki aroma khas rempah-rempah dengan konsistensi cair. Minyak herbal konsentrasi 300 mg/ml memiliki warna yang sedikit lebih pekat dibandingkan dengan minyak herbal konsentrasi 150 mg/ml.

Tabel 1. Identitas spesies dan suku tanaman bahan minyak herbal dari Usaha Bali setelah dilakukan uji Determinasi di di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.

Nama Daerah	Jenis tumbuhan	Suku
Kunyit	<i>Curcuma longa</i> L.	Zingiberaceae
Kencur	<i>Kaemferia galangal</i> L.	Zingiberaceae
Cengkeh	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. & L.M.Perry	Myrtaceae
Jahe	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Zingiberaceae
Bangle	<i>Zingiber montanum</i>	Zingiberaceae
Kayu Manis	<i>Cinnamomum burmani</i>	Lauraceae

Tabel 2. Hasil uji organoleptis pembuatan minyak herbal dengan perbedaan konsentrasi dari Usada Bali.

Uji organolaptis	Hasil Pengujian	
	Minyak Herbal 150 mg/ml	Minyak Herbal 300 mg/ml
Bau	Khas rempah-rempah	Khas rempah-rempah
Bentuk	Cair	Cair
Warna	Kuning muda	Kuning pekat

3.3. Hasil skrining fitokimia

Hasil pengujian skrining fitokimia diperoleh bahwa kedua konsentrasi minyak herbal Usada Bali mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, steroid dan terpenoid, seperti ditampilkan pada Tabel 3. Hal tersebut menunjukkan bahwa jenis pelarut dan metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini mampu menarik beberapa senyawa metabolit sekunder tersebut. Minyak kelapa merupakan zat yang bersifat non-polar. Flavonoid dalam bentuk glikosida umumnya memiliki kelarutan yang baik dalam air. Namun, aglikon flavonoid memiliki kelarutan yang rendah pada air dan lebih larut ke dalam pelarut yang lebih non-polar (Kumar & Pandey, 2013). Flavonoid yang terekstraksi ke dalam minyak herbal ini dapat berada dalam bentuk aglikonnya. Senyawa terpenoid seperti halnya senyawa steroid juga umumnya larut dalam pelarut non-polar. Sebagian besar terpenoid primer (terpen linier dan terpen siklis sederhana) terdiri dari struktur hidrokarbon, sehingga molekul ini sangat non-polar. Terpen non-volatil umumnya dapat diekstraksi menggunakan pelarut organik yang sangat nonpolar (Jiang *et al.*, 2016).

3.4. Hasil pengujian anti-inflamasi

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas minyak herbal dari bahan Usada Bali sebagai anti-inflamasi secara topikal. Obat-obatan anti-inflamasi oral yang digunakan dalam jangka waktu lama dapat menimbulkan berbagai efek samping yang merugikan. Hal ini menuntut adanya alternatif terapi inflamasi yang dapat bekerja secara lokal pada area yang mengalami peradangan atau nyeri sehingga penelitian anti-inlamasi topikal khususnya dari bahan herbal sangat diperlukan. Pada penelitian ini karagenan digunakan sebagai agen

penginduksi inflamasi pada kaki mencit. Karagenan adalah karbohidrat alami (polisakarida) yang diperoleh dari rumput laut yang banyak digunakan sebagai stimulus inflamasi dalam studi praklinis. Edema kaki tikus atau mencit yang diinduksi karagenan adalah metode pengujian yang secara luas digunakan untuk menentukan aktivitas anti-inflamasi dan merupakan model hewan yang sederhana untuk evaluasi nyeri dan peradangan tanpa menimbulkan cedera atau kerusakan pada kaki yang mengalami peradangan. Peradangan tersebut disebabkan oleh adanya pelepasan histamin dan prostaglandin setelah injeksi dengan karagenan (Necas & Bartosikova, 2013). Lopes *et al.*, (2020) menemukan bahwa karagenan mampu mengaktifkan makrofag untuk menghasilkan sitokin pro-inflamasi seperti TNF dan IL-1 β dimana sekresi TNF bergantung pada pensinyalan TLR4/ MyD88, sedangkan produksi pro-IL-1 β bergantung pada jalur pensinyalan TLR4/ TRIF/ SYK/ *Reactive Oxygen Species* (ROS) dimana pematangan pro-IL1 β menjadi IL-1 β bergantung pada aktivasi inflammasom NLRP3 kanonik melalui pensinyalan Pannexin-1/P2X7/K+.

Tabel 3. Hasil skrining fitokimia minyak herbal dengan perbedaan konsentrasi dari Usada Bali.
Keterangan : (+) = ada, (-) = tidak ada.

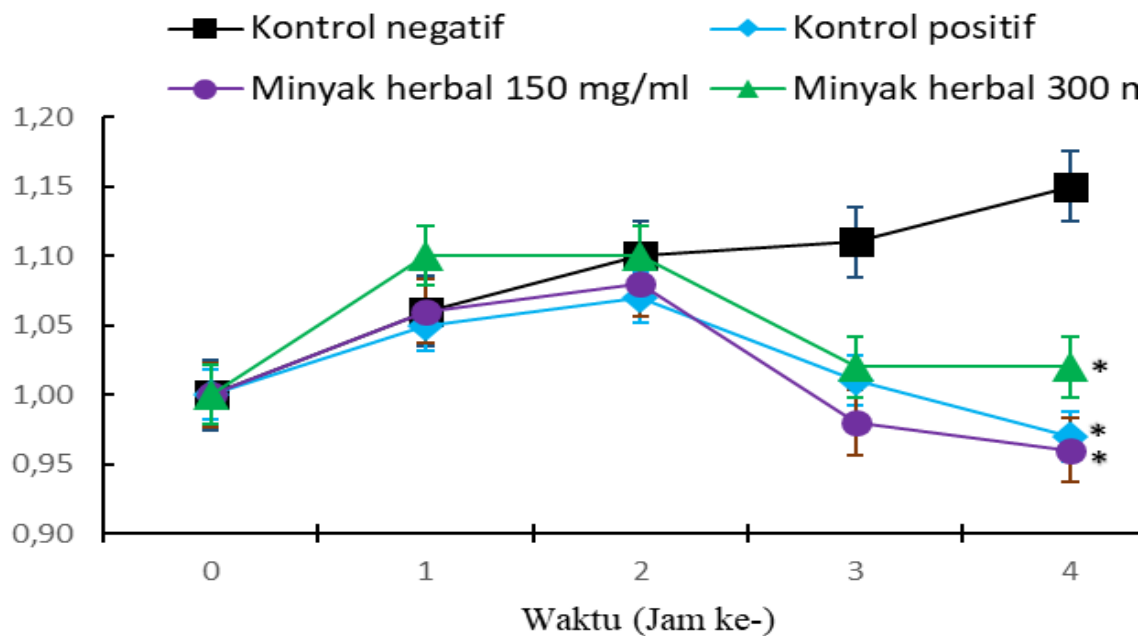
Senyawa metabolit sekunder	Hasil	
	Minyak Herbal 150mg/ml	Minyak Herbal 300mg/ml
Terpenoid	+	+
Saponin	-	-
Tannin	-	-
Alkaloid	-	-
Flavonoid	+	+
Steroid	+	+

Hasil pengujian aktivitas anti-inflamasi diperoleh nilai rata-rata (mean $\pm$ SEM) volume peradangan relatif kaki mencit pada jam ke-1 pada kelompok kontrol negatif, positif, minyak herbal 150 mg/ml dan minyak herbal 300 mg/ml secara berturut-turut adalah $1,10 \pm 0,049$; $1,05 \pm 0,046$; $1,06 \pm 0,049$; dan $1,10 \pm 0,062$. Pada jam ke-2 volume peradangan kaki mencit pada kelompok kontrol negatif, positif, minyak herbal 150 mg/ml dan minyak herbal 300 mg/ml secara berturut-turut adalah $1,10 \pm 0,085$; $1,07 \pm 0,100$; $1,08 \pm 0,055$; dan $1,10 \pm 0,085$. Pada jam ke-3 volume peradangan kaki mencit pada kelompok kontrol negatif, positif, minyak herbal 150 mg/ml dan minyak herbal 300 mg/ml secara berturut-turut adalah $1,11 \pm 0,129$; $1,01 \pm 0,132$; $0,98 \pm 0,119$; dan $1,01 \pm 0,094$. Sementara pada jam ke-4 volume peradangan kaki mencit pada kelompok kontrol negatif, positif, minyak herbal 150 mg/ml dan minyak herbal 300 mg/ml secara berturut-turut adalah $1,15 \pm 0,119$; $0,97 \pm 0,046$; $0,96 \pm 0,070$; dan $1,02 \pm 0,057$.

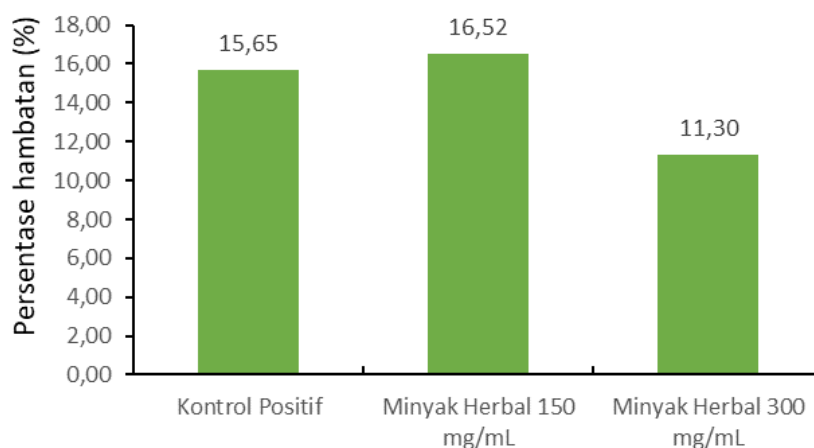
Gambar 1 terlihat bahwa volume peradangan kaki mencit pada semua kelompok mengalami peningkatan sampai jam ke-2 setelah induksi dengan karagenan dan kemudian pada jam ke-3 dan ke-4 terjadi penurunan volume peradangan pada kelompok perlakuan dan kontrol positif namun kelompok kontrol negatif masih mengalami peningkatan hingga jam ke-4 pengamatan. Pada jam ke-4, kelompok kontrol negatif masih mengalami peningkatan volume peradangan hingga 1,15 kali lipat dibandingkan volume peradangan awal pada jam ke-0, namun pemberian kontrol positif natrium diklofenak topikal, serta pemberian minyak herbal konsentrasi 150 mg/ml dan 300 mg/ml mampu mengembalikan volume peradangan kaki mencit hingga mendekati volume awal berturut-turut yaitu sebesar 0,97 kali; 0,96 kali; dan 1,02 kali dibandingkan volume awal. Berdasarkan analisis statistik, tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada volume peradangan relatif pada jam ke-0, 1, 2 dan 3 namun pada jam ke-4 terdapat perbedaan volume peradangan relatif yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif ($p=0,003$), minyak herbal 150 mg/mL ($p=0,005$) dan 300 mg/mL ($p=0,020$). Perubahan volume peradangan relatif yang dihasilkan oleh kedua dosis minyak herbal tidak berbeda secara statistik ($p>0,05$) dan keduanya sebanding dengan kontrol positif ($p>0,05$). Pada jam ke-4, sediaan topikal natrium diklofenak mampu menghambat peradangan sebesar 15,65%, minyak herbal 150 mg/mL mampu menurunkan peradangan hingga 16,52% sedangkan minyak herbal 300 mg/ml mampu menghambat peradangan sebesar 11,30%, namun ketiganya tidak berbeda signifikan secara statistik. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kedua konsentrasi minyak herbal yang digunakan dalam penelitian ini memiliki aktivitas sebagai anti-inflamasi topikal yang hampir sebanding dengan natrium diklofenak dan tidak dipengaruhi oleh konsentrasi. Persentase penghambatan peradangan kelompok kontrol dan perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2.

Hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa minyak herbal Usada Bali berpotensi memiliki aktivitas sebagai anti-inflamasi secara topikal. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya kandungan senyawa flavonoid, steroid dan terpenoid yang terkandung di dalamnya. Pengembangan obat yang bekerja secara topikal, hambatan terbesar untuk pengiriman obat secara transdermal adalah mekanisme pelindung kulit, terutama stratum korneum. Hasil penelitian ini, yaitu senyawa terpenoid alami diketahui mampu meningkatkan penetrasi obat secara transdermal dengan lebih aman dan efektif dibandingkan senyawa yang disintesis secara kimia untuk meningkatkan penyerapan obat secara perkutan (Chen *et al.*, 2016). Selain itu, penggunaan minyak sebagai pembawa zat dengan lipofilitas yang sesuai, memungkinkan kemampuan sediaan untuk mentransfer zat aktif melewati membran lipid pada sel kulit. Hal ini didukung dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Hajhashemi & Safaei (2021) diketahui bahwa minyak

zaitun baik tunggal maupun dalam bentuk kombinasinya dengan minyak kayu putih ternyata mampu menjadi pembawa yang menjanjikan untuk penetrasi kulit dari senyawa asam boswellat secara topikal dan memberikan efek anti-inflamasi pada model hewan coba inflamasi yang diinduksi karagenan lebih baik dibandingkan dengan pembawa propilen glikol, mentol dan D-limonen. Asam boswellat merupakan kandungan dari *Boswellia* yang diketahui memiliki efek anti-inflamasi topikal yang cukup signifikan dan sering digunakan untuk mengatasi kondisi inflamasi kronis (Hajhashemi & Safaei, 2021).



Gambar 1. Grafik perubahan volume peradangan relatif (V_n/V_o) kaki mencit yang diinjeksi karagenan. data ditampilkan dalam bentuk Mean $\pm$ SEM ($n=6$). * : $p < 0,05$ vs kontrol negatif, uji *Kruskal wallis* diikuti dengan *Mann-whitney* dengan taraf kepercayaan 95%. V_n : volume peradangan pada jam ke- n . V_o : volume peradangan pada jam ke-0.



Gambar 2. Persentase hambatan peradangan kaki mencit yang diinduksi karagenan pada jam ke-4.

Bahan-bahan herbal yang digunakan untuk pembuatan minyak herbal dalam penelitian ini telah banyak diteliti khasiatnya sebagai anti-inflamasi baik secara oral maupun topikal. Jahe (*Zingiber officinale*) adalah rempah-rempah yang umum dan banyak digunakan oleh masyarakat. Rimpang Jahe diketahui memiliki berbagai konstituen kimia, termasuk senyawa fenolik, terpenoid, polisakarida, lipid, asam organik, dan serat dengan berbagai aktivitas biologis, termasuk antioksidan, anti-inflamasi, antimikroba, antikanker, neuroprotektif, pelindung kardiovaskular, pelindung pernapasan, antiobesitas, antidiabetik, antinausea, dan aktivitas antiemetik (Mao *et al.*, 2019). Kurkumin merupakan zat aktif anti-inflamasi yang terkandung pada Kunyit (*Curcuma longa*). Dari hasil penelitian diketahui bahwa pasien dengan osteoarthritis menunjukkan perbaikan rasa sakit, peningkatan fungsi fisik, dan kualitas hidup setelah mengonsumsi kurkumin dan melaporkan adanya pengurangan penggunaan analgesik yang digunakan secara bersamaan dan pengurangan efek samping selama pengobatan, dimana hal tersebut diperkuat dengan hasil studi *in vitro* yang menunjukkan bahwa kurkumin dapat mencegah apoptosis kondrosit, menekan pelepasan proteoglikan, metaloprotease, siklooksigenase, prostaglandin E-2, dan sitokin inflamasi di kondrosit (Chin, 2016).

Studi lainnya menunjukkan bahwa ekstrak Kencur (*Kaempferia galanga*) juga memiliki efek anti-inflamasi pada tikus inflamasi yang diinduksi karagenan melalui penghambatan enzim COX-1 dan COX-2 yang merupakan enzim yang membantu pembentukan mediator inflamasi (Umar *et al.*, 2012). Bangle (*Zingiber montanum*) secara tradisional telah digunakan untuk mengobati peradangan, nyeri, dan masalah pernapasan dan studi ilmiah menunjukkan bahwa Bangle memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antikanker, neuroprotektif/neurotrofik, antijamur/antimikroba (Han *et al.*, 2021). Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan kandungannya yaitu Eugenol dari hasil penelitian dilaporkan menunjukkan aktivitas anti-inflamasi, analgesik dan antipiretik melalui pengujian pada hewan. Selain itu, kulit batang Kayu Manis (*Cinnamon burmanii*) juga dilaporkan memiliki efek anti-inflamasi dimana senyawa trans-cinnamaldehyde dan p-cymene berkontribusi pada efek anti-inflamasi yang kuat dari ekstrak kayu manis (Schink *et al.*, 2018).

Hasil penelitian ini memberikan gambaran bahwa sediaan tradisional yang berasal dari kearifan lokal khususnya Usada Bali memiliki potensi yang dapat dieksplorasi untuk penemuan sumber-sumber obat baru dari bahan herbal termasuk sebagai anti-inflamasi. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui mekanisme kerja dari minyak herbal ini dalam memberikan hambatan terhadap proses peradangan atau inflamasi sehingga dapat dikembangkan menjadi alternatif terapi pada pasien yang mengalami inflamasi kronis dan memerlukan terapi dalam

jangka waktu yang lama. Selain itu juga perlu dilakukan studi formulasi untuk memaksimalkan efek anti-inflamasi yang dihasilkan dari ramuan tradisional tersebut.

4. Kesimpulan

Minyak herbal tradisional dari bahan Usada Bali yang terdiri dari Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe), Kunyit (*Curcuma longa* Lin), Kencur (*Kaemferia galangal* L), Bangle (*Zingiber montanum*), Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dan Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) yang diekstraksi dengan minyak kelapa dengan konsentrasi 150 mg/mL dan 300 mg/mL memiliki aktivitas anti-inflamasi pada mencit *paw edema* yang diinduksi karagenan.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih diberikan kepada Staf Laboratorium Farmasi Bahan Alam, Fakultas Farmasi Universitas Mahasaraswati Denpasar yang telah memfasilitasi dan membantu studi eksperimental dan penyiapan hewan coba dalam penelitian ini.

Deklarasi Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

Daftar Pustaka

- Bindu, S., Mazumder, S., dan Bandyopadhyay, U. (2020). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochemical Pharmacology*, 180(114147). 10.1016/j.bcp.2020.114147.
- Chen, J., Jiang, Q.-D., Chai, Y.-P., Zhang, H., Peng, P., dan Yang, X.-X. (2016). Natural Terpenes as Penetration Enhancers for Transdermal Drug Delivery. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(12). 10.3390/MOLECULES21121709.
- Chin, K. (2016). The spice for joint inflammation: anti-inflammatory role of curcumin in treating osteoarthritis. *Drug design, development and therapy*, 10: pp.3029–3042. 10.2147/DDDT.S117432.
- Dragos, D., Gilca, M., Gaman, L., Vlad, A., Iosif, L., Stoian, I., dan Lupescu, O. (2017). Phytomedicine in joint disorders. *Nutrients*, 9(70): pp.1–18. 10.3390/nu9010070.
- Falconer, J., Murphy, A., Young, S., Clark, A., Tiziani, S., Guma, M., dan Buckley, C. (2018). Review: Synovial Cell Metabolism and Chronic Inflammation in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)*, 70(7): pp.984–999. 10.1002/ART.40504.
- Firestein, G., dan McInnes, I. (2017). Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Immunity*, 46(2): pp.183–196. 10.1016/J.IMMUNI.2017.02.006.
- Hajhashemi, V., dan Safaei, S. (2021). Effect of a Selection of Skin Penetration Enhancers on Topical Anti-Inflammatory Effect of Boswellic Acids in Carrageenan-Induced Paw Edema in Rats. *Advanced biomedical research*, 10(1): pp.18. 10.4103/ABR.ABR_222_20.
- Han, A., Kim, H., Piao, D., Jung, C., dan Seo, E. (2021). Phytochemicals and Bioactivities of *Zingiber cassumunar* Roxb. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(8). 10.3390/MOLECULES26082377.
- Jiang, Z., Kempinski, C., dan Chappell, J. (2016). Extraction and Analysis of Terpenes/Terpenoids. *Current protocols in plant biology*, 1(2): pp.345. 10.1002/CPPB.20024.
- Kumar, S., dan Pandey, A.K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*, 2013. 10.1155/2013/162750.

- Lin, Y., Anzaghe, M., dan Schülke, S. (2020). Update on the Pathomechanism, Diagnosis, and Treatment Options for Rheumatoid Arthritis. *Cells*, 9(4). 10.3390/CELLS9040880.
- Lindler, B., Long, K., Taylor, N., dan Lei, W. (2020). Use of Herbal Medications for Treatment of Osteoarthritis and Rheumatoid Arthritis. *Medicines (Basel, Switzerland)*, 7(11): pp.67. 10.3390/MEDICINES7110067.
- Lingadurai, S., Nath, L.K., Kar, P.K., Besra, S.E., dan Joseph, R.V. (2007). Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of methanolic extract of the leaves of *Fraxinus floribunda* Wallich. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines : AJTCAM*, 4(4): pp.411–416. 10.4314/AJTCAM.V4I4.31235.
- Lopes, A., Silva, R., Fonseca, M., Gomes, F., Maganin, A., Ribeiro, L., Marques, L., Cunha, F., Alves-Filho, J., Zamboni, D., Lopes, N., Franklin, B., Gombault, A., FS, R., Quesniaux, V., Couillin, I., Ryffel, B., dan Cunha, T. (2020). Molecular basis of carrageenan-induced cytokines production in macrophages. *Cell communication and signaling : CCS*, 18(1). 10.1186/S12964-020-00621-X.
- Mao, Q., Xu, X., Cao, S., Gan, R., Corke, H., Beta, T., dan Li, H. (2019). Bioactive Compounds and Bioactivities of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Foods (Basel, Switzerland)*, 8(6). 10.3390/FOODS8060185.
- Necas, J., dan Bartosikova, L. (2013). Carrageenan: A review. *Veterinárni medicína*, 58(4): pp.187–205. 10.17221/6758-VETMED.
- Sastrawan, I.N., Sangi, M., dan Kamu, V. (2013). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Adas (*Foeniculum vulgare*) Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Sains*, 13(2): pp.110–115. 10.35799/JIS.13.2.2013.3054.
- Schink, A., Naumoska, K., Kitanovski, Z., Kampf, C., Fröhlich-Nowoisky, J., Thines, E., Pöschl, U., Schuppan, D., dan Lucas, K. (2018). Anti-inflammatory effects of cinnamon extract and identification of active compounds influencing the TLR2 and TLR4 signaling pathways. *Food & function*, 9(11): pp.5950–5964. 10.1039/C8FO01286E.
- Shea, B., Swinden, M. V., Ghogomu, E.T., Ortiz, Z., Katchamart, W., Rader, T., Bombardier, C., Wells, G., dan Tugwell, P. (2013). Folic acid and folinic acid for reducing side effects in patients receiving methotrexate for rheumatoid arthritis. *The Cochrane database of systematic reviews*, 2013(5). 10.1002/14651858.CD000951.PUB2.
- Tateiwa, D., Yoshikawa, H., dan Kaito, T. (2019). Cartilage and Bone Destruction in Arthritis: Pathogenesis and Treatment Strategy: A Literature Review. *Cells*, 8(8). 10.3390/CELLS8080818.
- Umar, M., Asmawi, M., Sadikun, A., Atangwho, I., Yam, M., Altaf, R., dan Ahmed, A. (2012). Bioactivity-guided isolation of ethyl-p-methoxycinnamate, an anti-inflammatory constituent, from *Kaempferia galanga* L. extracts. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 17(7): pp.8720–8734. 10.3390/MOLECULES17078720.
- Wasserman, A. (2011). Diagnosis and management of rheumatoid arthritis. *American family physician*, 84(11): pp.1245–1252.





Formulasi Nanoemulsi Ekstrak Terpurifikasi Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) Terinkorporasi dalam *Dissolved Microneedle Patch*

Amalia Daryati¹, Meila Tunjung Suryaningrum¹, Ahmad Prakoso¹, Ikke Ramandhita Mulia Isnaini¹ dan Syaiful Choiri^{2*}

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

²Teknologi Farmasetik dan Sistem Penghantaran Obat, Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta, Indonesia, 57126.

*email korespondensi: s.choiri@mipa.uns.ac.id

Received 16 September 2022, Accepted 29 November 2022, Published 30 November 2022

Abstrak: Sistem penghantaran sediaan patch transdermal mampu meningkatkan kepatuhan pasien, diabetes melitus dengan menghindari regimen dosis yang rumit serta penggunaan injeksi insulin. Senyawa 11 β ,13-dihydroveranolide yang diisolasi dari tanaman daun afrika (*Vernonia amygdalina*) terbukti secara efektif mampu menurunkan kadar gula darah. *Microneedle* merupakan alat untuk menghantarkan obat secara perkutan sehingga mampu mencapai sirkulasi sistemik. Penelitian ini bertujuan untuk memformulasikan nanoemulsi isolat ekstrak terpurifikasi daun afrika terinkorporasi dalam *dissolved microneedle patch*. Senyawa diisolasi dan diekstraksi menggunakan maserasi dengan pelarut metanol, dilanjutkan fraksinasi cair-cair, dan kromatografi kolom. Purifikat yang diperoleh dikarakterisasi profil kromatogram lapis tipis dan spektra vibrasional. Pengembangan formula nanoemulsi menggunakan teknik *mixture design* untuk memperoleh formula optimum yang diinkorporasikan ke dalam campuran polimer dan *microneedle* dicetak menggunakan *master template*. Pengujian *in vivo* dilakukan menggunakan tikus sebagai model hewan uji dan dikaji penurunan kadar gula darah tikus. Hasil fraksi semipolar diperoleh rendemen 11,99 % dan isolat daun afrika diperoleh rendemen 0,075%. Profil kromatogram lapis tipis menunjukkan spot tunggal pada sampel isolat dan spektra vibrasional mengkonfirmasi gugus-gugus senyawa 11 β ,13-dihydroveranolide. Karakterisasi ukuran droplet nanoemulsi menunjukkan hasil 73,54 $\pm$ 3,92 nm dengan distribusi ukuran droplet yang seragam 0,594 $\pm$ 0,058. Jarum yang dihasilkan berukuran pada rentang 100-250 μ m dengan nilai *folding endurance patch* sebesar >300 kali. Hasil pengujian kadar glukosa menunjukkan bahwa kelompok *patch* transdermal nanoemulsi mampu menurunkan kadar gula darah sebesar 60% dan tidak berbeda bermakna dengan control positif. Formula *patch* isolat tanpa nanoemulsi mampu menurunkan kadar gula darah tikus sebesar 20%. Formulasi nanoemulsi isolat daun afrika terinkorporasi dalam *dissolving microneedle* menunjukkan peningkatan efektivitas antidiabetes dibandingkan tanpa formulasi nanoemulsi.

Kata kunci: anti-diabetes; daun afrika; *microneedle*; nanoemulsi; optimasi

Abstract. African Leaf (*Vernonia amygdalina*) Purified Extract Nanoemulsion Formulation Incorporated in *Dissolved Microneedle Patch*. A transdermal *patch* delivery system can improve patient compliance with diabetes mellitus because it eliminates the complex dose regiment and insulin injection. The 11 β ,13-dihydroveranolide that isolated from the african leaf plant (*Vernonia amygdalina*) were proven to be effective in lowering blood sugar levels. *Microneedle* is a device for delivering drugs percutaneously so that they can reach the systemic circulation. This study aims to formulate a nanoemulsion of an isolated extract of purified African leaf extract incorporated in dissolved microneedle. The compounds were

isolated and extracted using maceration with methanol as solvent, followed by liquid-liquid extraction, and column chromatography. The isolates obtained were characterized by thin layer chromatogram profiles and vibrational spectra. The development of nanoemulsion formula using mixture design technique to obtain the optimum formula. The optimum formula was incorporated into the polymer mixture and microneedle printed using a master template. In vivo testing was carried out using rats as test animal models and studied the decrease in rat blood sugar levels. The results showed that the nanoemulsion transdermal *patch* group experienced a fairly good decrease, which was about 60% of the initial glucose level. It is quite close to the positive control results which decreased by 75% and better than the non-nanoemulsion transdermal *patch* group which only decreased by about 20%.

Keywords: anti-diabetic; african leaf; microneedle; nanoemulsion; optimization

1. Pendahuluan

Diabetes merupakan kelainan metabolik kronis dengan nilai prevalensi relatif tinggi yang terus mengalami peningkatan secara kuantitas dengan laju 2% pertahun (Pulungan *et al.*, 2019). Tatalaksana terapi diabetes melitus secara farmakologis seperti terapi insulin dan pemberian obat oral antidiabetes merupakan lini pertama untuk mengontrol kadar obat dalam darah. Permasalahan utama yang masih dihadapi yaitu rendahnya kepatuhan sehingga tidak tercapainya tujuan terapi diabetes (Pranoto, 2012). Salah satu sebab utama kegagalan terapi adalah permasalahan administrasi sediaan yang tidak menyenangkan, khususnya bagi pasien diabetes melitus tipe I, dan bahkan regimen terapi yang kompleks seperti multiterapi untuk pasien geriatri (Srinatania *et al.*, 2020). Permasalahan tersebut yang mendasari menurunnya kepatuhan pasien sehingga tidak tercapai kadar obat dalam sirkulasi sistemik (Najmi, 2018). Oleh karena itu, perlunya modifikasi sistem penghantaran obat yang mampu meningkatkan kenyamanan serta kemudahan dalam mengkonsumsi obat sehingga tercapainya tujuan terapi diabetes.

Sistem penghantaran obat dikembangkan untuk meningkatkan efektivitas dan meningkatkan efikasi dari suatu obat. Efikasi sistem penghantaran sediaan secara transdermal mampu menghantarkan obat melalui kulit dengan kecepatan tertentu untuk mencapai efek sistemik. Manfaat ini tidak hanya diperoleh dengan desain dan rancangan yang sederhana, sistem formulasi yang kompleks dengan modifikasi berbasis nanoteknologi mampu meningkatkan efektivitas dari sistem transdermal (Singh *et al.*, 2015). Metabolisme lintas pertama tidak dialami oleh sediaan transdermal, maka dapat diperoleh keseragaman konsentrasi dalam plasma dan nilai bioavailabilitas yang tinggi. *Patch* transdermal akan melepaskan obat secara berkelanjutan dan terkontrol sampai pada waktu tertentu selama menempel pada permukaan kulit (Zhang *et al.*, 2014). Hal ini diharapkan dapat meningkatkan kepatuhan pasien dalam meminum obat, khususnya pediatri dan geriatri.

Patch merupakan sediaan transdermal yang terdiri dari satu atau gabungan polimer yang bekerja sebagai pengontrol pelepasan obat (Setyawan *et al.*, 2016), kelemahan utama sediaan *patch* ini adalah permeasi melewati lapisan kulit bagian terluar yang merupakan barrier primer pada transport perkutan. *Microneedle* merupakan jarum yang berukuran mikrometer yang dapat digunakan sebagai teknologi penghantaran obat dan biasanya diaplikasikan secara transdermal sebagai disruptor fisik barrier absorpsi perkutan (Ita, 2017). *Microneedle* yang digunakan merupakan jenis *dissolving microneedle* yang akan melarut seutuhnya saat masuk ke lapisan kulit. Polimer yang digunakan dalam sistem ini merupakan polimer larut air (Kim *et al.*, 2012). Teknologi ini senyawa yang sudah diinkorporasikan ke dalam sistem *microneedle patch* dapat menembus lapisan stratum corneum yang merupakan penghalang terbesar sediaan transdermal dengan tidak menimbulkan rasa sakit berarti karena tidak masuk terlalu dalam ke kulit dan tetap dapat melepaskan obat secara optimal.

Pengembangan senyawa sebagai antidiabetik sudah sangat banyak, baik senyawa alami maupun senyawa sintetis. Senyawa antidiabetes alami salah satunya adalah 11 β ,13-*dihydroveranolide* yang diisolasi dari tanaman daun afrika (*Vernonia amygdalina*) memiliki potensi antidiabetes yang tinggi jika dibandingkan dengan kontrol positif (Okoduwa *et al.*, 2017). Daun afrika terbukti mampu mempengaruhi regenerasi sel β pankreas pada dosis secara oral pada dosis 150 mg/kgBB tikus jantan (Tandi *et al.*, 2019).

Sifat hipofolik menyebabkan kemampuan permeasi senyawa 11 β ,13-*dihydroveranolide* cenderung sulit. Cara yang dapat digunakan sebagai solusinya adalah membuat suatu sistem nanoemulsi yang dapat meningkatkan permeasi senyawa tersebut. Nanoemulsi merupakan sediaan dengan ukuran droplet kurang dari 100 nm yang stabil secara termodinamik dan terdiri dari minyak dan air yang membentuk dispersi transparan dengan penstabil surfaktan dan kosurfaktan (Shafiq *et al.*, 2007). Sistem nanoemulsi pada sediaan transdermal mampu meningkatkan permeasi senyawa lipofilik dan hidrofilik sehingga obat mampu melewati stratum korneum dan akhirnya mencapai sirkulasi sistemik (Alkilani *et al.*, 2018). Hingga saat ini, penelitian mengenai *microneedle patch* nanoemulsi senyawa 11 β ,13-*dihydroveranolide* dalam menurunkan kadar gula darah pada diabetes melitus belum dikembangkan lebih jauh. Penelitian ini bertujuan untuk memformulasikan nanoemulsi isolat ekstrak terpurifikasi daun afrika terinkorporasi dalam dissolved microneedle serta kajian efektivitas penurunan kadar gula darah pada tikus.

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan

Daun tanaman daun afrika (*Vernonia amygdalina*) diperoleh dari Karanganyar, Jawa Tengah, Indonesia dipetik daun ketiga dari pucuk sampai daun ke 9 dari tanaman dengan rentang umur 9 bulan sampai 2 tahun pada bulan Juli 2022. Tanaman yang digunakan diidentifikasi dan diautentikasi di UPT Laboratorium Universitas Setia Budi dengan nomor: 26E/DET/UPT-LAB/18.08.2022.

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi yaitu metanol, etil asetat, dan n-heksan diperoleh dari PT. Agung Jaya (Surakarta, Indonesia). Pelarut lain yang digunakan dalam proses isolasi adalah metanol dan kloroform yang diperoleh dari Merck (Darmstadt, Jerman). Formulasi nanoemulsi dan *microneedle patch* menggunakan bahan Transcutol P (Gattefosse; Prancis), Capmul PG 8 NF (Abitec; Janesville, WI), Kolliphor EL (BASF; Jerman), HPMC K100LV (Colorcon, WestPoint, PA), PVP K30 (BASF; Jerman), dan PVA (Sigma Aldrich; USA). Kontrol positif pada penelitian ini menggunakan sediaan tablet glibenklamid (Indofarma; Bekasi, Indonesia).

Hewan uji yang digunakan adalah tikus jantan galur wistar putih dengan berat 220 ± 30 g diperoleh dari UPT Laboratorium Terpadu Universitas Sebelas Maret yang diperlakukan sesuai dengan protokol uji yang disetujui oleh komisi etik dan memperoleh ethical clearance dari Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta dengan nomor: 4291/A.2/KEPK-FKUMS/VI/2022.

2.2. Metode

2.2.1. Ekstraksi dan purifikasi 11 β ,13-*dihydroveranolide* dari tanaman daun afrika (*Vernonia amygdalina*)

Daun dari tanaman daun afrika segar dicuci kemudian diangin-anginkan selama tujuh hari sampai bobot konstan dengan kandungan lembab <5% (3,14%). Daun afrika kering dihaluskan dengan blender (Philips HR2056; Jakarta, Indonesia) kemudian direndam dengan metanol selama 3 x 24 jam. Ekstrak kemudian diremaserasi menggunakan methanol dengan menambahkan 2 Liter dalam 100 g ekstrak kering. Penggantian pelarut selama remaserasi dilakukan setiap 24 jam. Ekstrak dipekatkan menggunakan vacuum rotary evaporator pada suhu 40°C. Purifikasi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut n-heksan (fraksi non polar) dan dilanjutkan dengan etil asetat (fraksi semi polar). Hasil purifikasi etil asetat diuapkan pada suhu ruang sehingga diperoleh ekstrak kering. Purifikasi dilanjutkan dengan pemisahan menggunakan kromatografi kolom dengan fase diam silika gel 60 (0,2-0,5 mm) untuk kromatografi kolom dan fase gerak metanol:kloroform dengan gradient perbandingan 0,5:9,5 sampai 0:10 setiap 50 mL. Fraksi dengan waktu retensi yang sama setelah pengujian dengan

KLT kemudian dijadikan satu dan diuji gugus vibrasional menggunakan FTIR (Okoduwa *et al.*, 2021).

2.2.2. Karakterisasi hasil purifikasi dan isolat

Karakterisasi purifikat dilakukan menggunakan metode kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak kloroform:metanol (8,75:1,75) untuk melihat pola bercak pada plat KLT. Analisis gugus vibrasional menggunakan alat ATR-FTIR (Agilent Cary 630; California, USA) pada sampel yang memiliki nilai R_f yang sama dan dikeringkan. Analisis ATR-FTIR dilakukan dengan rentang kondisi bilangan gelombang 4000-650 cm^{-1} , resolusi 4/ cm^{-1} , jumlah iterasi 12 kali, dan *backgorund scan* 12 kali untuk melihat prediksi adanya senyawa target (Okoduwa *et al.*, 2021).

2.2.3. Pembuatan nanoemulsi isolat daun afrika

Formula nanoemulsi (M/A) dikembangkan menggunakan teknik *simplex mixture design* untuk menentukan formula optimum dengan komponen Capmul PG 8 NF sebagai fase minyak, Transcutol CG sebagai co-surfaktan, dan Kolliphor EL sebagai surfaktan. Masing-masing faktor memiliki perbandingan tertentu sesuai desain dan rancangan percobaan berbasis pada *simplex lattice design*. Isolat daun afrika berjumlah 200 mg ditambahkan ke dalam campuran Capmul PG 8 NF, Transcutol P dan Kolliphor EL dan diaduk selama 24 jam. Campuran disentrifugasi menggunakan *Thermo Scientific Fresco 17 microsentifugator* (Waltham, MA) selama 5 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Supernatan yang diperoleh kemudian dipisahkan dan disimpan selama 24 jam di suhu ruang.

Waktu emulsifikasi dihitung dengan menghitung kecepatan prekonsentrat melarut sepenuhnya ke aquadest dengan perbandingan 1:50 yang diaduk menggunakan magnetic stirrer (Thermo Scientific; Massachusetts; USA) dengan kecepatan 400 rpm. Waktu yang dibutuhkan prekonsentrat nanoemulsi untuk teremulsifikasi sempurna dicatat sebagai waktu emulsifikasi. Nanoemulsi diukur persentase transmisinya dengan Thermo Scientific Orion AquaMate 8100 Spectrofotometer UV Vis (Waltham, MA) pada panjang gelombang 650 nm.

Faktor dianalisis dengan analisa regresi linear berganda sehingga diperoleh persamaan waktu emulsifikasi dan transmitan. Persamaan yang diperoleh kemudian dibuat dalam bentuk contour plot yang digunakan untuk memahami pengaruh utama serta interaksi pada masing-masing faktor. Optimasi formula nanoemulsi dilakukan menggunakan metode mixture design (*simplex lattice model*) yang dianalisa menggunakan software Design Expert v.12 (StatEase; Minneapolis, MN) dengan parameter waktu emulsifikasi (goal: minimize) dan persentase transmittan (goal: maximize). Formula terbaik dipilih oleh sistem melalui grafik contour plot.

2.2.4. Uji ukuran partikel dan potensial zeta nanoemulsi isolat daun afrika

Ukuran partikel *droplet* nanoemulsi dikarakterisasi menggunakan *particle size analyzer* (SZ-100 Malvern, UK) dengan prinsip *dynamic light scattering* pada panjang gelombang 633 nm dengan sudut hamburan 173° . Hasil Z-average dan *polydispersity index* digunakan untuk menyatakan ukuran dan distribusi *droplet* nanoemulsi. Zeta potensial dari nanoemulsi diukur dengan alat yang sama berdasarkan atas *electrophoretic mobility* dari nanoemulsi menggunakan kuvet karbon. Nanoemulsi divisualisasikan menggunakan mikroskop cahaya (Nikon Eclipse E100 LED; Tokyo, Jepang). Sebanyak dua tetes cairan nanoemulsi ditetaskan ke atas kaca preparat kemudian diamati pada perbesaran 1000 kali. Hasil kemudian ditangkap dengan kamera dan dilakukan perkiraan ukuran menggunakan *software* ImageJ.

2.2.5. Pembuatan transdermal *patch* dengan *microneedle*

Transdermal *patch* dengan *microneedle* daun afrika dibuat menggunakan metode cetak. Polimer HPMC sebanyak 0,1 g dikembangkan pada 5 mL air panas kemudian ditambah dengan PVP dan PVA masing-masing sebanyak 0,1 dan 10 g. Sebanyak 5 mL nanoemulsi senyawa 11 β ,13-*dihydrovernonide* ditambahkan dan diaduk. Cetakan silikon sebelumnya dibuat dengan menuang campuran silikon di atas jarum pencetak dan ditunggu hingga kering. Campuran *patch* kemudian dituangkan ke cetakan silikon dan diberi tekanan tinggi dengan *syringe* yang telah dimodifikasi untuk menghilangkan gelembung udara yang menghalangi terbentuknya jarum kemudian dikeringkan di suhu ruang selama 24 jam (RH 40 $\pm$ 5%).

Microneedle patch non-nanoemulsi dibuat dengan melarutkan 200 mg isolat daun afrika ke dalam 15 mL etanol. Sebanyak 200 μ L larutan kemudian dihomogenkan dalam 5 mL aquadest. Campuran tersebut kemudian diinkorporasi ke dalam polimer pembuat *patch* yang dibuat sama dengan *microneedle patch* nanoemulsi. *Patch* dicetak dengan cetakan yang sama kemudian dikeringkan di suhu ruang selama 24 jam (RH 40 $\pm$ 5%).

Microneedle patch yang terbentuk diukur ukuran jarumnya menggunakan proyeksi ukuran *template* yang ditangkap dengan *photograph* menggunakan kamera beresolusi tinggi. Diameter *patch* diukur dengan jangka sorong (ketelitian 0.05 mm). Kekuatan *patch* diuji dengan melakukan *folding endurance patch*. *Patch* diambil sebanyak 6 secara acak kemudian dilipat menjadi 2 bagian secara berulang sampai patah atau terdapat retakan. Jumlah lipatan dihitung sebagai nilai kekuatan lipatan *patch*. Sediaan *microneedle patch* disimpan pada suhu ruang dengan kelembapan 40 $\pm$ 5%).

2.2.6. Pengukuran kadar glukosa darah

Pengujian secara *in vivo* dilakukan menggunakan tikus jantan galur wistar putih. Sebanyak 16 tikus diadaptasi selama 7 hari yang kemudian dibagi menjadi 4 kelompok. Pada

hari ke-8 semua tikus diinduksi diabetes melitus menggunakan aloksan dengan dosis 150 mg/kg BB. Aloksan dipilih karena secara selektif dapat merusak sel β pankreas karena aloksan yang terakumulasi melalui transporter glukosa GLUT2 (Watkins & Cooperstein, 1976). Kadar glukosa diperiksa melalui ekor dengan *glucosemeter* (Sinocare; Jakarta, Indonesia) setelah 3 hari sejak pemberian induksi diabetes dan ditetapkan sebagai kadar glukosa awal. Setelah tikus uji terindikasi diabetes melitus, kelompok kontrol positif diberi suspensi glibenklamid 5 mg secara peroral satu kali di pagi hari selama waktu pengujian; kelompok kontrol negatif diberi *microneedle patch* tanpa bahan aktif; kelompok perlakuan 1 diberi *microneedle Patch* nanoemulsi senyawa 11 β ,13-*dihydroveranolide* sebanyak 4 *patch* dengan dosis 2,5 mg/3 mm; dan kelompok perlakuan 2 diberi *microneedle patch* isolat senyawa 11 β ,13-*dihydroveranolide* sebanyak 4 *patch* dengan dosis 2,5 mg/3 mm. Perlakuan diberikan selama 7 hari dengan pengecekan kadar glukosa dilakukan pada hari ke 3, 5, dan 7 setelah diberi perlakuan dan tanpa penggantian *patch*.

2.2.7. Analisis data

Subjek uji *microneedle patch* nanoemulsi senyawa 11 β ,13-*dihydroveranolide* diuji kekuatan *patch* nya, efektivitasnya dalam menurunkan kadar glukosa tikus, serta kemampuan permeasi ke dalam kulit. Data kadar gula dalam darah selanjutnya dianalisis dengan *One Way ANOVA* dengan taraf kepercayaan 95% ($p=0,05$).

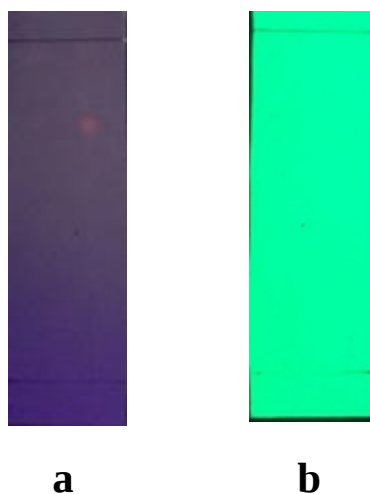
3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Ekstraksi dan purifikasi tanaman daun afrika (*Vernonia amygdalina*)

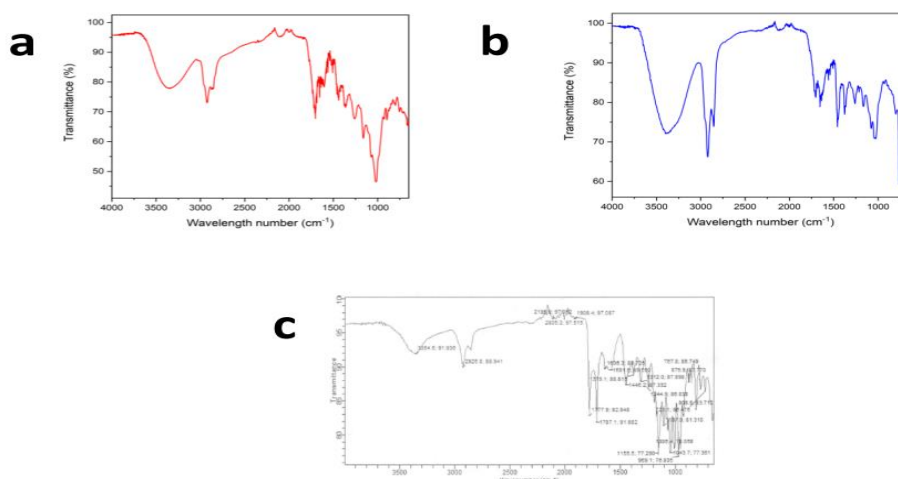
Simplisia daun tanaman daun afrika yang didapat memiliki kandungan lembab 3,14% (<10%), sehingga mencegah dekomposisi secara enzimatis metabolit sekunder pada daun afrika (Sulasmi *et al.*, 2016). Proses ekstraksi diperoleh ekstrak pekat sebanyak 2,546 L dan diperoleh hasil fraksinasi menggunakan etil asetat diperoleh 23,98 gram (rendemen 11,99 % dari simplisia daun afrika kering). Purifikasi lebih lanjut dari fraksi etil asetat yaitu isolasi senyawa 11 β ,13-*dihydroveranolide* menggunakan kolom kromatografi yang menghasilkan 27 botol variasi kombinasi methanol:kloroform. Setelah pengujian KLT didapat 4 botol dengan faktor retensi yang relatif sama, yaitu 0,825; 0,775; 0,8; dan 0,75. Keempat botol sudah menunjukkan satu spot yang artinya isolat yang diperoleh memiliki tendensi senyawa identik dan diduga merupakan senyawa yang sama (Gambar 1). Keempat isolat kemudian dijadikan satu dan dikeringkan pada suhu kamar. Rendemen yang dihasilkan adalah 1,475 gram (0,7375%) bila dibandingkan dengan simplisia daun kering yang digunakan.

Fraksi semipolar dan isolat hasil kromatografi kolom dianalisis gugus vibrasionalnya dengan instrumen FTIR (Gambar 2). Pengujian ini ditujukan untuk menjustifikasi adanya

senyawa 11 β ,13-*dihydroveranolide* pada spot tunggal di pengujian KLT. Hasil menunjukkan bahwa pada spectra fraksi semipolar memiliki gugus spesifik pada senyawa 11 β ,13-*dihydroveranolide*. Spektra pada sampel isolat sudah menunjukkan gugus-gugus senyawa 11 β ,13-*dihydroveranolide* dan memiliki pola vibrasional baik pada gugus fungsional ataupun fingerprint yang identik dengan acuan penelitian yang dilakukan oleh Okoduwa *et al.*, (2021) yang telah mengisolasi senyawa 11 β ,13-*dihydroveranolide* (Gambar 4b). Gugus penyusun yang ditemukan antara lain, gugus O-H pada bilangan gelombang 3100-3500 cm^{-1} ; C-H pada bilangan gelombang 2500-3300 cm^{-1} ; C=O pada bilangan gelombang 1670-1820 cm^{-1} ; C=O pada bilangan gelombang 1700-1725 cm^{-1} ; =C=H₂ pada bilangan gelombang 1440-1480 cm^{-1} ; =C=H₂ pada bilangan gelombang 960-990 cm^{-1} ; serta -C=CH- pada bilangan gelombang 790-840 cm^{-1} .



Gambar 1. Hasil KLT purifikat tanaman daun afrika dengan kromatografi kolom pada tingkat fase gerak metanol-kloroform (10:90) pada panjang gelombang 366 nm (a) dan 254 nm (b).



Gambar 2. Spektra IR sampel fraksi etil asetat (a), Spektra IR sampel isolat (b), Spektra IR senyawa 11 β ,13-*dihydroveranolide* pada penelitian Okoduwa, (2017) (c).

3.2. Nanoemulsi isolat ekstrak daun afrika (*Vernonia amygdalina*) senyawa 11 β ,13-dihydroveranolide

Nanoemulsi minyak dalam air (M/A) dibuat dengan *loading* isolat senyawa 11 β ,13-dihydroveranolide sebanyak 2,5% (25 mg/mL). Rancangan formula beserta data waktu emulsifikasi dan transmitan tertera pada Tabel 1. Hasil yang diperoleh dianalisis menggunakan analisa regresi linear berganda sehingga diperoleh Persamaan 1.

$$\text{Transmitan (\%)} = 23.29 A + 46.87 B + 41.25 C - 23.37 AB + 108.00 AC - 103.52 BC$$

Persamaan 1. Presentase transmittan yang diperoleh dari analisa regresi linear berganda. Keterangan: A= Capmul PG 8 NF; B= Transcutol P; C=Kolliphor EL.

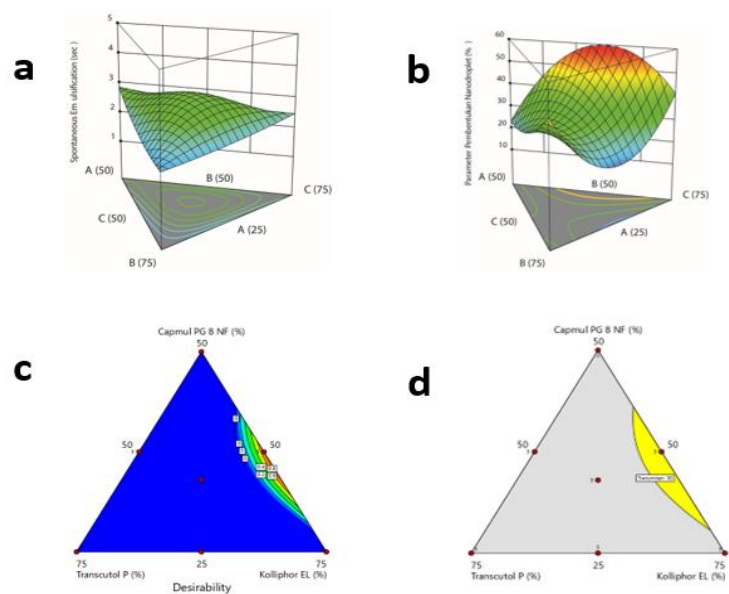
Persamaan 1 menunjukkan bahwa model signifikan ($p < 0,05$) sehingga faktor yang dikaji mempengaruhi nilai transmitan dan *lack of fit test* yang tidak bermakna ($p > 0,05$) sehingga tidak menyebabkan *misleading* dalam prediksi model. Nilai *adjusted* R^2 0,7546 dan *predicted* R^2 0,6338, sehingga selisih antara kedua koefisien determinasi tersebut kurang dari 20%, menunjukkan keadekuatan prediksi dari model (Gelman *et al.*, 2019). Hasil menunjukkan bahwa linear model menunjukkan pengaruh yang bermakna ($p < 0,05$), sehingga setiap faktor memberikan pengaruh yang bermakna terhadap transmitan. Transcutol P (B; 47,84) memberikan pengaruh yang paling tinggi terhadap parameter transmitan. Kolliphor EL (C; 41,25) memberikan pengaruh cukup tinggi dan Capmul PG 8 NF (A; 23,29) yang memberikan pengaruh terkecil. Interaksi antara Capmul PG 8 NF dengan Transcutol P memberikan penurunan yang tidak bermakna (-23,37; $p > 0,05$). Interaksi antara Capmul PG 8 NF dengan Kolliphor EL memberikan pengaruh yang bermakna (108,0; $p < 0,05$), sedangkan interaksi antara Transcutol P dan Kolliphor EL memberikan signifikansi paling rendah. Co-surfaktan dapat meningkatkan fleksibilitas sehingga ketegangan pada film surfaktan dapat menurun dan membentuk sistem nanodroplet yang baik. Namun, pengaruh co-surfaktan dalam meningkatkan stabilitas nanoemulsi ini tergantung dari panjang rantainya. Co-surfaktan alkohol rantai panjang seperti Transcutol P yang merupakan heksanol dapat menghasilkan pemisahan domain air yang tertutup, sehingga menyebabkan sistem misel yang terbentuk kurang seragam dan kurang terorganisir (Shaker *et al.*, 2019).

Tabel 1. Desain dan rancangan nanoemulsi isolat tanaman daun afrika menggunakan *simplex lattice design*. Keterangan: A= Capmul PG 8 NF; B= Transcutol P; C= Kolliphor EL.

A (mL)	B (mL)	C (mL)	Transmitan (%)	Waktu Emulsifikasi (detik)
0,25	0,50	0,75	40,80 $\pm$ 6,87	3,37 $\pm$ 0,70
0,50	0,50	0,50	26,90 $\pm$ 2,5	2,54 $\pm$ 0,76
0,37	0,50	0,62	16,10 $\pm$ 6,72	2,50 $\pm$ 0,36
0,25	0,62	0,62	23,80 $\pm$ 6,95	3,22 $\pm$ 1,50
0,37	0,62	0,50	41,83 $\pm$ 12,68	2,74 $\pm$ 0,60
0,33	0,58	0,58	56,93 $\pm$ 4,43	2,94 $\pm$ 0,69
0,25	0,75	0,50	47,40 $\pm$ 4,27	2,34 $\pm$ 0,26

Contour plot dari parameter transmittan ditunjukkan pada Gambar 3a dengan kombinasi bahan yakni Transcutol P sebagai ko-surfaktan, Kolliphor EL sebagai surfaktan dan Capmul PG-8 NF sebagai fase minyak. Gambar 3a menunjukkan daerah optimum untuk sistem nanoemulsi fase minyak dalam air (M/A) berada pada kombinasi bahan Kolliphor EL dan Capmul PG 8 NF pada proporsi tengah, dan Transcutol P dengan konsentrasi rendah. Hal ini disebabkan Kolliphor EL berinteraksi dengan minyak terhidrofilisasi sehingga mampu meminimalisasi ukuran droplet (di bawah 100 nm) yang ditunjukkan dengan nilai transmittan yang tinggi.

Contour plot dari parameter transmittan ditunjukkan pada Gambar 3b dengan kombinasi bahan yakni Transcutol P sebagai co-surfaktan, Kolliphor EL sebagai surfaktan dan Capmul PG 8 NF sebagai fase minyak. Gambar 3a menunjukkan daerah optimum untuk sistem nanoemulsi berada pada kombinasi bahan Kolliphor EL dan Capmul PG 8 NF pada proporsi tengah, dan Transcutol P dengan konsentrasi rendah. Hal ini disebabkan Kolliphor EL berinteraksi dengan minyak terhidrofilisasi sehingga mampu meminimalisasi ukuran *droplet* (di bawah 100 nm) yang ditunjukkan dengan nilai transmittan yang tinggi.



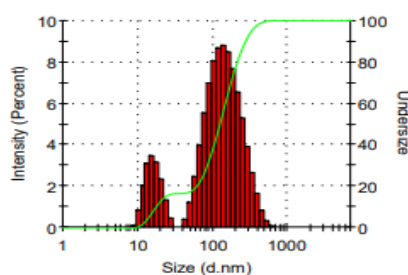
Gambar 3. *Contour plot* parameter waktu emulsifikasi Keterangan: (a) transmittan (b) desirability (c) overlay plot menggunakan metode *simplex lattice design*.

Gambar 3c menggambarkan plot *desirability* yang digunakan untuk menentukan formula paling optimum, berdasarkan *spontaneous emulsification* melalui parameter waktu emulsifikasi dan pembentukan nano *droplet* melalui karakterisasi nilai transmittan. Formula optimum yang diharapkan memiliki karakteristik *spontaneous emulsification* kurang dari 30 detik dan transmittansi yang lebih dari 70% (Kuncahyo *et al.*, 2019). Daerah optimum ditunjukkan oleh *superimposed contour plot* yang dibatasi oleh parameter transmittan. Formula terbaik yang

dihasilkan yaitu kombinasi Capmul PG 8 NF sebesar 0,35 mL; Transcutol P 0,5 mL; dan Kolliphor EL 0,64 mL.

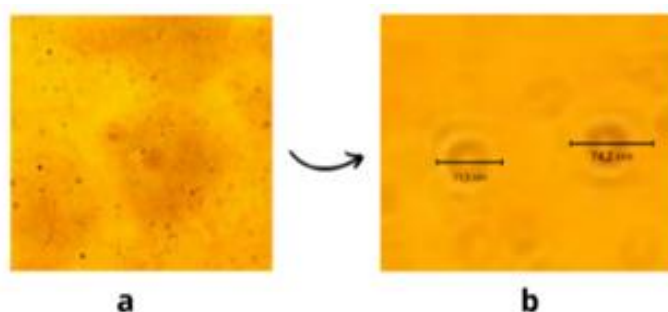
3.3. Uji ukuran partikel dan potensial zeta nanoemulsi senyawa 11 β ,13-dihydroveranolide

Sistem nanoemulsi yang paling optimal kemudian dilakukan pengujian *particle size analyzer* (PSA). Tujuan pengujian ini adalah memastikan ukuran sampel berada dalam ukuran nanometer. Hasil distribusi ukuran droplet ditunjukkan pada Gambar 4 yang diperoleh ukuran *droplet* rerata $73,54 \pm 3,92$ nm dengan distribusi ukuran *droplet* yang menunjukkan ukuran *droplet* seragam $0,594 \pm 0,058$.



Gambar 4. Distribusi ukuran droplet nanoemulsi formula optimum nanoemulsi isolat ekstrak daun afrika.

Hasil dari Gambar 4 terdapat 2 puncak yaitu menunjukkan terbentuknya puncak *droplet micellar* pada daerah sekitar 10 nm sedangkan nanoemulsi secara murni ditunjukkan pada *droplet* dengan ukuran 100 nm. Hasil yang sama telah dilaporkan bahwa terjadi proses perubahan pola distribusi ukuran partikel karena proses solidifikasi terhadap proses emulsifikasi, tetapi juga interaksi antara formula lipid dan pembawanya yang akan mempengaruhi perilaku *nanodroplet*, maka dari itu puncak pertama dapat dipastikan merupakan sistem *micellar* dan puncak kedua merupakan sistem nanoemulsi (Kuncahyo *et al.*, 2019). Hasil ini diperkuat dengan ukuran droplet di bawah 20 nm merupakan karakteristik dari aglomerasi dari surfaktan yang disebut dengan *micellar*.



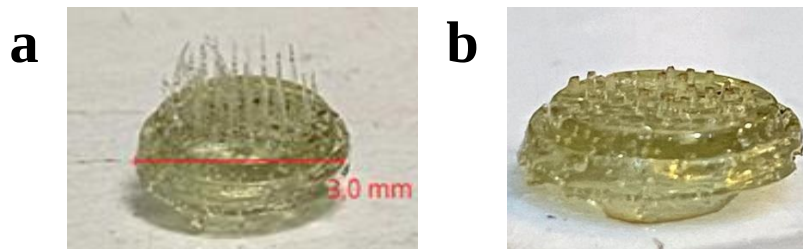
Gambar 5. Visualisasi mikroskop nanoemulsi formula optimum menggunakan perbesaran 1000x (a) dan overview ukuran droplet nanoemulsi yang dianalisis dengan software Image-J (b).

Visualisasi secara mikroskopik dilakukan untuk melihat ukuran partikel sistem nanoemulsi yang terbentuk. Pengujian ini bertujuan untuk melihat ukuran *droplet* nanoemulsi secara kualitatif yang merupakan justifikasi dari hasil analisis ukuran partikel (Gambar 5).

3.4. Pembuatan transdermal *patch* dengan *microneedle*

Sediaan *microneedle patch* yang dibuat menggunakan kombinasi polimer HPMC, PVA, dan PVP. Interaksi dari bahan PVA dan PVP maupun HPMC dan PVP tidak menimbulkan iritasi pada penguji kulit (Bhatia *et al.*, 2012). Dalam sediaan *patch*, HPMC berperan sebagai basis yang nantinya dapat mengikat sediaan nanoemulsi dengan komponen polimer pembentuk *patch* lain (Zakaria *et al.*, 2021). HPMC sebagai polimer tidak larut air memiliki bentuk kristal yang akan membentuk *barrier* bagi pergerakan molekul. PVP atau polivinil pirolidon merupakan polimer larut air yang mampu mengembang dan membentuk konsistensi menyerupai gel. Hal ini akan membentuk lapisan alami seperti pori pori yang dapat mempermudah molekul obat berdifusi keluar sediaan (Sateeh *et al.*, 2002). PVP memiliki sifat hidrofilik dan memiliki titik leleh yang rendah yang menjadi kunci meleburnya sediaan *microneedle transdermal patch* yang dibuat saat bersinggungan dengan suhu tubuh (Zakaria *et al.*, 2021). PVA sendiri merupakan polimer hidrofilik yang memiliki fungsi membentuk konsistensi atau kekerasan jarum pada sediaan. Menurut Ramadhani *et al.*, (2017) sediaan *patch* dengan perbandingan PVA yang lebih tinggi menghasilkan nilai ketebalan dan kekuatan *patch* yang lebih tinggi pula.

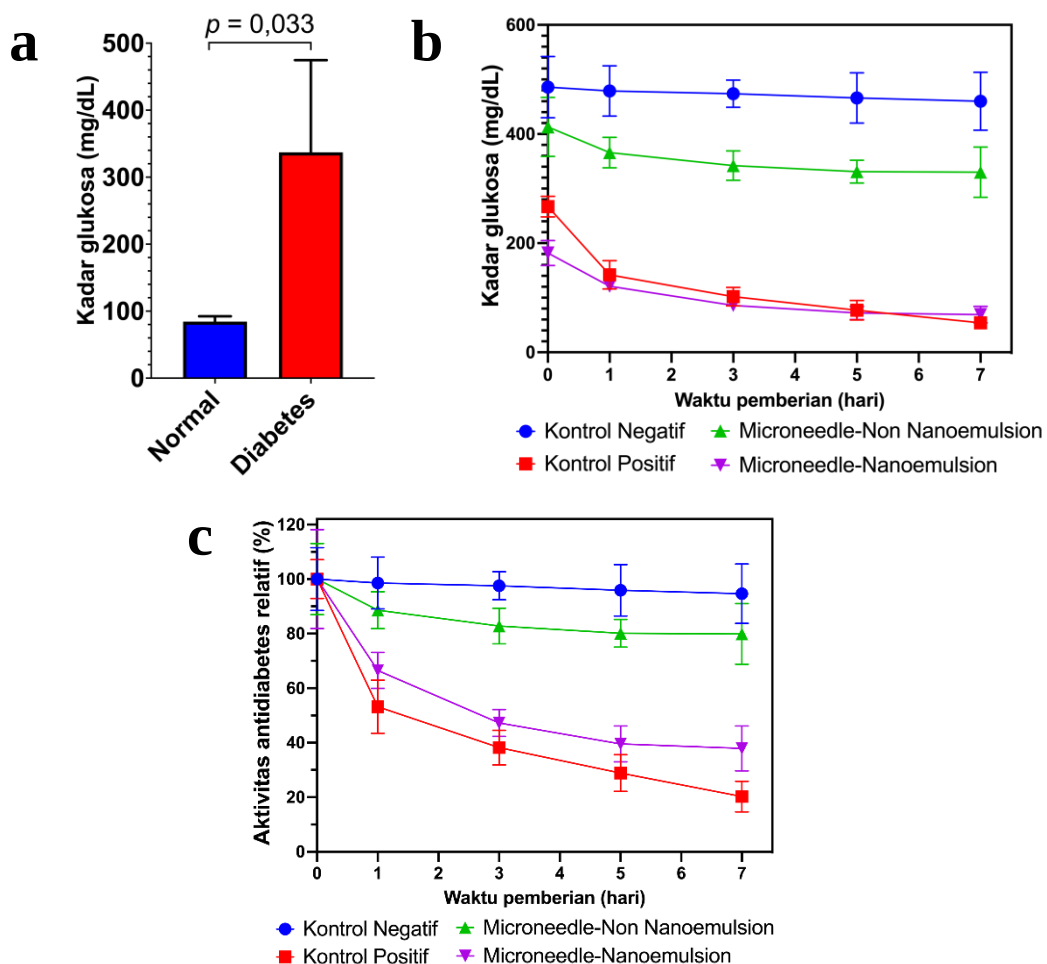
Hasil pembuatan *microneedle nanoemulsi* isolat daun afrika dapat dilihat pada Gambar 6a. Hasil menunjukkan terbentuk jarum-jarum dari cetakan template dengan diameter antara rentang 100-250 μm . Menurut Ita (2017), ukuran *microneedle* harus memiliki diameter 100-500 μm sehingga jarum yang dihasilkan sudah masuk kriteria tersebut. Hasil karakterisasi secara fisik menunjukkan bahwa *microneedle patch* memiliki nilai *folding endurance* yang tinggi (>300 lipatan). Hasil ini menunjukkan ketahanan fisik dari *microneedle patch* yang juga tinggi sehingga dapat mempertahankan konsistensi bentuknya. Evaluasi secara mikroskopis dari *microneedle patch* setelah diaplikasikan dapat dilihat pada Gambar 6b. Hasil menunjukkan terjadinya proses *dissolving microneedle* pada jarum setelah 1 hari diberikan kepada tikus yang diikuti dengan terlepasnya nanoemulsi isolat daun afrika. Nanoemulsi yang dihasilkan akan distabilkan karena diinkorporasikan dalam basis hydrogel sebagai protective colloidal yang mampu mencegah coalescence atau agregat dari nanodroplet. Proses pemadatan akan memfiksasi nanodroplet terdispersi dalam pembawa *microneedle patch*.



Gambar 6. Visualiasi makroskopik *prototype* nanoemulsi isolat daun afrika terinkorporasi dalam sediaan *patch* microneedle (a) dan visualisasi *prototype* sediaan setelah diaplikasikan (b).

3.6. Pengukuran kadar glukosa darah

Pola penurunan kadar glukosa darah tikus dalam pengujian *in vivo* dapat membuktikan kekuatan sediaan transdermal *patch* nanoemulsi senyawa 11 β ,13-*dihydroveranolide* dalam menurunkan kadar glukosa. Kelompok tikus yang digunakan adalah kontrol negatif, kontrol positif dengan menggunakan sediaan oral glibenklamid, kelompok perlakuan *patch* nanoemulsi, dan kelompok perlakuan *patch* larutan senyawa 11 β ,13-*dihydroveranolide*.



Gambar 7. Kadar gula darah tikus setelah induksi aloksan (diabetes) (a) serta profil kadar gula darah (b) dan relatif aktivitas (c) penurunan kadar gula darah setelah pemberian *patch* microneedle.

Data kadar glukosa darah tikus menunjukkan tikus sudah mengalami diabetes dengan peningkatan kadar gula darah yang bermakna ($p < 0,05$) (Gambar 7a) dengan peningkatan sebesar 350%. Kadar glukosa darah tikus antar kelompok kemudian diperbandingkan untuk melihat profil penurunan kadar glukosa tiap kelompoknya. Gambar 7b menunjukkan penurunan yang didapat tidak bisa diperbandingkan karena kadar awal diabetes melitus tiap kelompoknya berbeda. Perbandingan kadar gula darah akan lebih *relevant* jika diukur kemampuan bahan aktif dalam menurunkan kadar gula darah diukur dalam bentuk presentase (Gambar 7c). Tiap kelompok dibuat dengan garis awal yang sama yaitu 100%. Kemudian penurunan kadar glukosa dapat dihitung dalam bentuk persen pula untuk bisa dibandingkan. Hasil menunjukkan bahwa profil penurunan paling tinggi berada pada kelompok kontrol positif dengan kadar glukosa tikus menurun hingga 80% dari kadar awal pada hari ketiga. Kontrol negatif menunjukkan hasil yang sesuai prediksi dengan tidak ada penurunan berarti. Pada kelompok perlakuan sediaan uji, kelompok *patch* transdermal nanoemulsi menunjukkan penurunan yang lebih baik, yaitu sekitar 40% dari kadar glukosa awal dibanding kelompok dengan *patch* transdermal non nanoemulsi yang hanya turun sekitar 20%. Hasil penelitian ini memberikan persentase penurunan yang lebih baik dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang memformulasikan senyawa 11 β ,13-*dihydroveranolide* dalam bentuk sediaan oral yang hanya mampu menurunkan kadar glukosa darah pada tikus sebesar 12,55% (Okoduwa *et al.*, 2021).

Penurunan kadar glukosa pada tikus uji dikaitkan dengan fungsi perbaikan sel β pankreas. Kelompok dengan sediaan *patch* nanoemulsi memiliki aktivitas penurunan yang lebih baik dibandingkan kelompok dengan *patch* non nanoemulsi. Hal ini dikaitkan dengan kemampuan nanoemulsi dalam berdifusi ke dalam sel tubuh yang lebih baik dibandingkan sediaan nonnanoemulsi yang memiliki ukuran lebih besar sehingga menghambat masuknya zat aktif ke dalam sel (Alkilani *et al.*, 2018).

4. Kesimpulan

Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) memiliki kandungan senyawa 11 β ,13-*dihydroveranolide* yang terbukti mampu menurunkan kadar gula darah ditunjukkan dari penurunan kadar glukosa darah tikus dalam pengujian secara *in vivo* pada kelompok yang diberi sediaan microneedle *patch* nanoemulsi isolat daun afrika. Isolat senyawa 11 β ,13-*dihydroveranolide* diperoleh dengan metode kromatografi kolom dan dilakukan pengujian FTIR. Isolat diformulasikan ke dalam nanoemulsi transdermal *patch* dengan *microneedle* untuk selanjutnya diujikan secara *in vivo* ke tikus. Keterbatasan dalam penelitian ini adalah tidak adanya sediaan antidiabetes *patch* transdermal konvensional sebagai kontrol positif sehingga belum dapat mewakili efektivitas *patch* transdermal yang dibuat. Periode penelitian ini terbatas

yaitu hanya empat bulan sehingga diperlukan desain penelitian yang efisien. Saran penelitian perlunya *monitoring patch* transdermal yang dibuat secara berkala untuk mengetahui efektivitas obatnya.

Ucapan Terimakasih

Terima kasih kami sampaikan kepada Belmawa Ristekdikti atas dukungan penelitian melalui pendanaan penelitian pada tahun 2022 dan Universitas Sebelas Maret atas dukungan terhadap penelitian. Terimakasih juga kami sampaikan kepada Gattefosc (SaintPriest, Perancis), Abitec (Janesville, WI), BASF (Ludwigshafen, Jerman) yang telah memberikan bantuan bahan untuk formulasi.

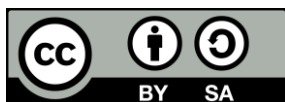
Deklarasi Konflik Kepentingan

S. Choiri merupakan salah satu editorial member JPSCR, proses review dan editing dilakukan secara independen dan tidak memberikan pengaruh apapun. Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

Daftar Pustaka

- Alkilani, A. Z., M. T. C., Mc Crudden, dan Donnely. R. F. (2018). Transdermal drug delivery: Innovative pharmaceutical development based on disruption of the barrier properties of the stratum corneum. *Pharmaceutics*, 7. 438-470.
- Bhatia, C., Sachdeva, M., dan Bajpai, M. (2012). Formulation and evaluation of transdermal patch of pregabalin. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(2), 569.
- Gelman, A., Goodrich, B., Gabry, J., dan Vehtari, A. (2019). R-squared for bayesian regression models. *The American Statistician*, 00: 1-3.
- Ita, K. (2017). Dissolving microneedles for transdermal drug delivery: Advances and challenges. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 93, 1116–1127.
- Kim, Y., Park, J., dan Prausnitz, M. R., (2012), Microneedles for Drug and Vaccine Delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64(14):1547–1568.
- Kuncahyo, I., Choiri, S., Fudholi, A., Martien, R. dan Rohman, A., (2019). Assessment of fractional factorial design for the selection and screening of appropriate components of a self-nanoemulsifying drug delivery system formulation. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 9(4): 609.
- Najmi, A. S. (2018). Kepatuhan Pengobatan pada pasien diabetes melitus (Studi di Puskesmas wilayah Surabaya). *Skripsi*, Universitas Airlangga: Surabaya.
- Okoduwa, S. I. R., Umar, I. A., James, D. B., dan Inuwa, H. M. (2017). Validation of the antidiabetic effects of *Vernonia amygdalina* delile leaf fractions in fortified diet-fed streptozotocin treated rat model of type-2 diabetes. *Journal of Diabetology*, 8(3): 75-85.
- Okoduwa, S. I., Umar, I. I. A., James, D. B., Inuwa, H. M., Habila, J. D., dan Venditti, A. (2021). Bioguided fractionation of hypoglycaemic component in methanol extract of *Vernonia amygdalina*: an in vivo study. *Natural Product Research*, 35(24), 5943-5947.
- Pranoto, A. (2012). *Terapi Insulin pada Penderita Diabetes Mellitus Rawat Jalan dan Rawat Inap*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Pulungan, A. B., Annisa, D., dan Imada, S. (2019). Diabetes melitus tipe-1 pada anak: Situasi di Indonesia dan tata laksana. *Sari Pediatri*, 20(6):392-400.

- Ramadhani, U. K. S., Djajadisastra, J., dan Iskandarsyah, I. (2017). Pengaruh polimer dan peningkat penetrasi terhadap karakter penetrasi matriks sediaan *patch* transdermal karvedilol. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 15(2), 121-127.
- Setyawan, E. I., Padmanaba, I. G. P., Samirana, P. O., dan Mahamuni, L. P. K. (2016). Efek PEG 400 dan mentol pada formulasi *patch* ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pelepasan senyawa polifenol. *Jurnal Farmasi Udayana*, 5(2), 12-18.
- Sateeh K., Vinod N., dan Ramesh P. (2002). Polymers in transdermal drug delivery systems. *Pharmaceutical technology*, 26(5), 62-81.
- Shafiq, S., Shakeel, F., Talegaonkar, S., Ahmad, F. J., Khar, R. K., dan Ali, M. (2007). Design and development of oral oil in water ramipril nanoemulsion formulation: in vitro and in vivo assessment. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 3(1), 28-44.
- Shaker, D. S., Ishak, R. A., Ghoneim, A., dan Elhuoni, M. A. (2019). Nanoemulsion: A review on mechanisms for the transdermal delivery of hydrophobic and hydrophilic drugs. *Scientia Pharmaceutica*, 87(17), 1-34.
- Singh, D., Pradhan, M., Nag, M., dan Singh, M. R. (2015). Vesicular system: Versatile carrier for transdermal delivery of bioactives. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 43(4), 282-290.
- Srinatania, D., Sukarya, D., dan Lindayani, L. (2020). Gambaran kepatuhan minum obat ARV pada anak dengan HIV/AIDS. *Jurnal Keperawatan Komprehensif*, 6(1): 53-58.
- Sulasmis, E. S., Indriwati, S. E., dan Suarsini, E. (2016). Preparation of various type of medicinal plants simplicia as material of jamu herbal. In *International Conference on Education (ICE2) 2018: Education and Innovation in Science in the Digital Era* (pp. 1014-1024).
- Tandi, J., Mariani, N. M. I., dan Setiawati, N. P. (2019). Potensi Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Gymnanthemum amygdalinum* (Delile) Sch. Bip, Ex walp) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Streptocotocin dan Pakan Tinggi Lemak. *Majalah Farmasetika*, 4(1): 66-77.
- Watkins, D. U. D. L. E. Y., dan Cooperstein, S. J. (1976). Effect of alloxan on islet tissue permeability: protection and reversal by dithiols. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 199(3), 575-582.
- Zakaria, N., Bangun, H., Vonna, A., Oesman, F., Khaira, Z., dan Fajrina, F. (2021). Pengaruh penggunaan polimer HPMC dan polivinil pirolidon terhadap karakteristik fisik transdermal *patch* natrium diklofenak. *Jurnal Sains & Kesehatan Darussalam*, 1(2), 58-66
- Zhang, Y., Cun, D., Kong, X., dan Fang, L. (2014). Design and evaluation of a novel transdermal *patch* containing diclofenac and teriflunomide for rheumatoid arthritis therapy. *Asian Journal of Pharmaceutical Science*, 9(5), 251-259.





Hubungan Pengetahuan, Sikap dengan Perilaku Tenaga Kefarmasian Terkait Peredaran Obat Palsu di Apotek Kota Semarang

Nisa Febrinasari*, Arifin Santoso dan Ria Hasrawati

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung, Jl Raya Kaligawe KM 4, Semarang, Indonesia, 50112.

*email korespondensi: nisafebrie@unissula.ac.id

Received 05 January 2022, Accepted 28 November 2022, Published 30 November 2022

Abstrak: Indonesia merupakan negara di Asia Tenggara yang memiliki nilai penemuan obat palsu yang cukup tinggi. Adanya penemuan peredaran obat palsu di Kota Semarang menunjukkan bahwa pengetahuan terkait obat palsu, sikap dan perilaku tenaga kefarmasian selaku penanggung jawab pelayanan kefarmasian menjadi sangat penting. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan pengetahuan, sikap dengan perilaku tenaga kefarmasian terhadap peredaran obat palsu di apotek kota Semarang. Jenis penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat observasi, yang dilakukan dengan pengambilan data secara *cross sectional*. Populasi dalam penelitian ini adalah Tenaga Kefarmasian (apoteker dan tenaga teknis kefarmasian) yang bekerja di apotek wilayah kota semarang dengan sampel sebanyak 80 orang. Pengambilan data menggunakan lembar *google form*. Data dianalisis menggunakan *uji chi-square*. Hasil penelitian menunjukkan hubungan pengetahuan tenaga kefarmasian dengan perilaku terkait obat palsu didapatkan nilai p sebesar 0,234, sedangkan hubungan sikap dengan perilaku tenaga kefarmasian terhadap obat palsu didapatkan nilai sebesar $p = 0,019$. Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan bahwa tidak ada hubungan antara pengetahuan dengan perilaku tenaga kefarmasian terhadap obat palsu di apotek kota semarang, tetapi terdapat hubungan antara sikap dengan perilaku tenaga kefarmasian terhadap obat palsu di kota semarang. Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk menggambarkan mengenai perilaku Tenaga Kefarmasian di Apotek sebagai peran untuk pencegahan dan evaluasi obat palsu di bidang kefarmasian.

Kata kunci: apotek; obat palsu; pengetahuan; perilaku; sikap

Abstract. Relationship between Knowledge, Attitude and Behavior of Pharmacists Related to Counterfeit Drugs at the Semarang City Pharmacy. Indonesia is a Southeast Asian country that has a fairly high value of counterfeit drug discovery. The provision of information and knowledge, especially to pharmaceutical staff as the person in charge of health services in the field of medicine, is very crucial. The purpose of this study was to determine the relationship between knowledge, attitudes and behavior of pharmacists towards counterfeit drugs in pharmacies in the city of Semarang. This type of research is an observational study, which was carried out using cross sectional data. The population in this study were pharmacists (pharmacist and pharmaceutical technical personnel) who worked in pharmacies in Semarang city with a sample of 80 people. Data retrieval using a google form sheet. Data were analyzed using chi-square test with $p\text{-value} < 0.05$. The results showed that the relationship between knowledge of pharmacists and behavior related to counterfeit drugs was obtained a value of 0.234. On other hand, the relationship between attitudes and behavior of pharmacists towards counterfeit drugs was 0.019. Based on these data, it can be concluded that there is no relationship between knowledge and behavior of pharmacists towards counterfeit drugs in Semarang, however, there is a correlation between attitudes and behavior of pharmacists towards counterfeit drugs in pharmacies in Semarang. Further research need to describe he

behavior of pharmacists in pharmacies as a role for the prevention and evaluation of counterfeit drugs in the pharmaceutical sector.

Keywords: pharmacy; counterfeit drug; knowledge; behavior; attitude

1. Pendahuluan

Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 36 Tahun 2009 tentang Kesehatan, Obat merupakan bahan atau paduan bahan, termasuk produk biologi yang digunakan untuk mempengaruhi atau menyelidiki sistem biologis atau penetapan biologis dalam rangka penetapan diagnosis, pencegahan, penyembuhan, pemulihan, peningkatan kesehatan dan kontrasepsi untuk manusia. Peredaran obat palsu menyebabkan keresahan tersendiri bagi masyarakat karena obat adalah komoditas primer penunjang kesehatan (Yulianingsih *et al.*, 2016). Obat palsu merupakan obat yang diproduksi oleh yang tidak berhak berdasarkan peraturan perundang-undangan atau produk obat dengan penandaan yang meniru identitas obat lain yang telah mendapatkan izin edar (Permenkes RI, 2008). Peredaran obat palsu sudah menjadi fenomena yang mendunia tidak hanya di Indonesia tetapi juga terjadi di negara lain (Adhinugroho, 2018).

WHO memperkirakan bahwa presentase peredaran obat palsu di negara berkembang adalah sekitar 10–30%. Laporan WHO menemukan bahwa obat palsu bersifat obat yang tergolong baru dan mahal seperti hormone, steroid, antihistamin, dan obat-obat malaria, tuberculosis, dan AIDS. Menurut laporan di Indonesia sendiri ada 25 % obat yang beredar merupakan obat palsu (Adhinugroho, 2018).

Obat palsu mempunyai resiko yang sangat merugikan yaitu resistensi obat, mengurangi kepercayaan terhadap tenaga kesehatan, terjadinya efek samping yang tidak dapat diprediksi serta peningkatan mortalitas dan morbiditas (Glass, 2014). Studi Shahverdi *et al.*, (2012) di Iran menunjukkan bahwa pengetahuan dan sikap seorang apoteker dapat mempengaruhi dari perilaku seorang apoteker terhadap obat palsu. Masalah peredaran obat palsu harus dapat diatasi dengan adanya pemberian informasi dan pemberian pendidikan kesehatan (Glass, 2014). Apoteker dalam hal ini berperan sebagai untuk melakukan perbaikan pada pelayanan kesehatan (Shahverdi *et al.*, 2012) serta apoteker merupakan faktor utama yang berhubungan dengan penerima obat dalam pencegahan peredaran obat palsu akan tetapi tenaga teknis kefarmasian (TTK) juga mempunyai peran yang penting dalam mencegah peredaran obat palsu di apotek, seperti mengenali obat palsu pada saat penerimaan obat. Selain itu Tenaga kefarmasian mempunyai pengetahuan yang baik terhadap obat generik dan penyakit hepatitis B (Hadi & Ichsan, 2022; Selifani *et al.*, 2022), akan tetapi belum ditemukan data terkait pengetahuan obat palsu di Indonesia.

Kasus pembuatan obat palsu oleh PBF dan peredarannya ke apotek-apotek di kota Semarang pada tahun 2019 (BPOM, 2019). Adanya peristiwa tersebut, dapat menjadi acuan bagi apoteker dengan dibantu TTK untuk lebih berhati-hati dalam melakukan pengelolaan obat. Apoteker dan tenaga teknis kefarmasian harus mempunyai pengetahuan dan sikap yang baik dalam mencegah peredaran obat palsu. Oleh karena itu penelitian terhadap pengetahuan, sikap dan perilaku apoteker dan tenaga teknik kefarmasian sangat mendesak untuk dilakukan. Penelitian serupa pernah dilakukan oleh Mubarak (2017), akan tetapi pada studi tersebut tidak memasukkan tenaga teknis kefarmasian pada sampelnya. Sehingga, berdasarkan uraian diatas, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana hubungan pengetahuan, sikap dengan perilaku tenaga kefarmasian terhadap peredaran obat palsu di Kota Semarang.

2. Bahan dan Metode

Penelitian ini telah mendapatkan *ethical clearance* dengan No. 257/VIII/2019/KomisiBioetik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung. Sampel yang digunakan adalah Tenaga Kefarmasian baik Apoteker maupun Tenaga Teknis Kefarmasian yang bekerja di apotek Kota Semarang. Data didapatkan dengan mengeneralisasi apoteker dan TTK di Kota Semarang. Pemilihan lokasi dilakukan secara *simple random sampling* menggunakan excell pada 394 apotek di 16 kecamatan di Kota Semarang. Perhitungan didapatkan dengan menggunakan rumus *Slovin* dapat dilihat pada Persamaan 1 (Siregar, 2013).

$$n = \frac{N}{1 + N.(e)^2}$$

Persamaan 1. Rumus *Slovin* untuk pemilihan lokasi secara *simple random sampling*.
Keterangan : n = 80 apotek.

Apotek yang didapatkan adalah 80 apotek, selanjutnya peneliti mendatangi masing-masing apotek yang terpilih dan melakukan pengambilan data secara *accidental*. Kuesioner diberikan pada apoteker dan atau TTK yang saat itu sedang menjalankan pelayanan kefarmasian dan sukarela untuk mengisi kuesioner.

Instrumen yang digunakan pada penelitian ini adalah kuisioner yang telah melalui proses uji validitas dan uji reliabilitas untuk menguji konten, keterbacaan, desain dan juga kemprehensif pada 30 Tenaga Kefarmasian. Pertanyaan kuesioner berdasarkan kuesioner dari Shahverdi *et al.*, (2012). Kuesioner tersebut diterjemahkan dari Bahasa inggris ke dalam Bahasa Indonesia (*forward-backward translation*) dan dimodifikasi dengan keadaan yang telah disesuaikan dengan peraturan yang berlaku di Indonesia dengan menggunakan peraturan dari Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil penelitian

3.1.1. Karakteristik responden

Tabel 1. menunjukkan bahwa dari 80 responden yang terdiri dari tenaga kefarmasian baik apoteker maupun tenaga teknis kefarmasian yang bekerja di apotek Kota Semarang didapatkan mayoritas responden terdiri dari pekerjaan sebagai apoteker dengan jenis kelamin perempuan memiliki rentang usia antara 20-29 tahun dan pengalaman bekerja antara 1-5 tahun.

Tabel 1. Distribusi responden yang terdiri dari tenaga kefarmasian baik apoteker maupun tenaga teknis kefarmasian yang bekerja di apotek Kota Semarang.

Kategori	Jumlah Responden	Persentase (%)
Usia		
20 – 29	59	73.8
30 – 39	15	18.8
40 – 49	4	5.0
>50	2	2.5
Jenis Kelamin		
Perempuan	61	76.2
Laki-Laki	19	23.8
Jabatan		
Apoteker	41	51.2
TTK	39	48.8
Pengalaman Bekerja		
< 1 tahun	16	20
1-5 tahun	41	51.2
6-10 tahun	16	20
> 10 tahun	7	8.8

3.1.2. Distribusi penelitian

Tabel 2 menyajikan hasil pengetahuan obat palsu yang terdiri dari 80 responden tenaga kefarmasian pada apotek di Kota Semarang dengan kategori pengetahuan baik sebanyak 49 orang (61,2%), cukup sebanyak 16 orang (20%), dan kurang baik sebanyak 15 orang (18,8%). Hasil penelitian terkait sikap responden yang terdiri dari 80 responden tenaga kefarmasian didapatkan hasil masing-masing kategori dengan positif sebanyak 67 orang (83,8%) dan negatif sebanyak 13 orang (16,2%). Hasil penelitian terkait perilaku responden, didapatkan bahwa dari 80 responden tenaga kefarmasian yang masuk dalam kategori perilaku yang baik sejumlah 65 orang (81,2%) dan kurang baik 15 orang (18,8%).

3.1.3. Hubungan pengetahuan dan sikap dengan perilaku tenaga kefarmasian terkait obat palsu

Data penelitian pada Tabel 3 dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat hubungan antara pengetahuan dengan perilaku tenaga kefarmasian terhadap obat palsu di apotek Kota Semarang. Sedangkan hasil dari tabel tersebut menunjukkan bahwa pengetahuan yang baik akan menghasilkan perilaku yang baik juga yang berarti menunjukkan bahwa pengetahuan yang baik

akan berbanding lurus dengan perilaku yang baik. Terdapat hubungan antara sikap dengan perilaku tenaga kefarmasian terhadap obat palsu di apotek Kota Semarang. Hal ini menunjukkan bahwa sikap yang positif akan berbanding lurus dengan perilaku yang didapatkan yaitu perilaku baik.

Tabel 2. Distribusi pengetahuan obat palsu, sikap dan perilaku responden tenaga kefarmasian pada apotek di Kota Semarang.

Kategori Penilaian	Jumlah Responden (Orang)	Persentase (%)
Pengetahuan obat palsu :		
Baik	49	61.2
Cukup	16	20
Kurang Baik	15	18.8
Total	80	100
Sikap :		
Positif	67	83.8
Negatif	13	16.2
Total	80	100
Perilaku :		
Baik	65	81.2
Kurang Baik	15	18.8
Total	80	100

Tabel 3. Hubungan pengetahuan dan sikap dengan perilaku responden tenaga kefarmasian terkait obat palsu di apotek Kota Semarang.

Kategori Penilaian	Perilaku Responden				Total		P-Value
	Kurang Baik		Baik				
	N	%	N	%	N	%	
Pengetahuan Responden :							
Kurang	1	1.25	14	17.5	15	18.75	0,234
Cukup	2	2.5	14	17.5	16	20	
Baik	12	15	37	46.25	49	61.25	
Total	15	18.75	65	81.25	80	100	
Sikap Responden :							
Positif	9	11.25	56	70	65	81.25	0,019
Negatif	6	7.5	9	11.25	15	18.75	
Total	15	19.75	65	81.25	80	100	

Hasil analisis data pada Tabel 4 tentang pertanyaan pengetahuan dapat didapatkan jika responden tenaga kefarmasian mayoritas mampu menjawab pertanyaan yang diajukan. Mayoritas dari pertanyaan berupa cara yang benar untuk mengetahui obat palsu dengan jumlah benar 80 responden (100%), selanjutnya pertanyaan berupa faktor penyebab pembuatan obat palsu 69 responden (86,2%), contoh obat yang dipalsukan 68 responden (85%) dan pertanyaan mengenai membedakan obat palsu dan resmi serta ciri obat palsu masing-masing responden menjawab benar adalah 74 responden (92,5%). Sebaliknya, pertanyaan mengenai sanksi yang didapatkan jika memasok produk obat palsu atau ilegal, adalah pertanyaan yang cukup banyak dijawab dengan salah dengan jumlah responden sebanyak 66%.

Tabel 4. Hasil jawaban responden tenaga kefarmasian pengetahuan obat palsu pada apotek di Kota Semarang.

Kategori Penilaian	Item Benar		Item Salah	
	N	%	N	%
metode untuk mengetahui obat palsu.	80	100	0	0
sanksi yang didapatkan jika memasok produk tanpa lisensi pembuatan maupun izin edar dan tidak sesuai dengan aturan.	53	66,2	27	33,8
faktor-faktor yang dapat menyebabkan produsen membuat obat palsu.	69	86,2	11	13,8
contoh obat yang dipalsukan.	68	85	12	15
cara membedakan obat asli dan palsu.	74	92,5	6	7,5
Ciri obat palsu berdasarkan BPOM 2011.	74	92,5	6	7,5

Tabel 5. Hasil jawaban responden sikap tenaga kefarmasian terkait obat palsu pada apotek di Kota Semarang.

Kategori Penilaian	Sangat Setuju		Setuju		Netral		Tidak Setuju		Sangat Tidak Setuju	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Dalam kasus yang luar biasa, diperbolehkan untuk menggunakan obat palsu yang dikemas berbeda dari yang asli.	1	1,2	5	6,2	6	7,5	27	33,8	41	51,2
Dalam hal kekurangan obat-obatan, boleh saja menyediakan obat tersebut dari pemasok yang belum terdaftar atau tidak resmi	0	0	1	1,2 5	11	13,8	28	35	40	50
Tidak masalah untuk menggunakan obat palsu untuk mengobati penyakit yang tidak vital.	0	0	0	0	18	12,5	21	26,2	41	51,2
Program Pendidikan atau program pelatihan dapat memberikan pengetahuan yang cukup kepada tenaga kefarmasian untuk mencegah peredaran obat palsu.	2 0	25	4 8	60	11	13,8	1	1,2	0	0
Banyak apotek di kota semarang menyalurkan obat palsu	1	1,2	3	3,8	34	42,5	34	42,5	8	10

Hasil penelitian pada Tabel 5 terdapat pertanyaan tentang sikap tenaga kefarmasian terhadap obat palsu di apotek Kota Semarang dan hasilnya terdapat pertanyaan berupa permasalahan yang dihadapi jika langsung di apotek. Untuk pertanyaan berupa penggunaan obat palsu untuk kasus yang luar biasa jumlah paling besar sebesar 41 orang (51,2%) menjawab sangat tidak setuju. Pertanyaan berupa memasok produk obat di pemasok yang illegal terdapat 40 orang (50%) menjawab sangat tidak setuju. Penggunaan obat palsu untuk pengobatan yang tidak vital mayoritas bersikap sangat tidak setuju dengan jumlah 41 orang (51,2%). Pertanyaan perlu diadakan untuk pelatihan tentang obat palsu mayoritas menjawab setuju dengan jumlah

48 orang (60%) dan pertanyaan apakah banyak apotek yang menjual obat palsu mayoritas bersikap netral dan ada juga yang tidak setuju dengan responden sebesar 34 orang (42,5%).

Pertanyaan-pertanyaan yang tertera pada Tabel 6 mayoritas responden mampu menjawab dengan benar sesuai dengan pertanyaan yang diajukan. Pertanyaan “kemungkinan pasien minum obat palsu” terdapat 69 orang (86,2%) yang menjawab menyutujuinya. Pertanyaan “apakah akan menerima untuk mendistribusikan obat yang masuk secara ilegal” mayoritas pertanyaan dijawab dengan benar sejumlah 76 orang (95%). Sejumlah 72 orang (90%) menjawab dengan benar pada pertanyaan “apakah pernah menemui obat palsu apa tidak”. Mayoritas responden tidak ada pembelian produk obat palsu dijawab dengan benar atau tidak menyutujuinya sebesar 53 orang (66,2%). Pertanyaan mengenai pelaporan kepada yang berwenang jika mendapatkan obat palsu banyak dijawab dengan benar dengan jumlah sebanyak 65 orang (81,2%) dan adanya pelatihan khusus untuk mengidentifikasi obat palsu sebanyak 40 orang (50%) menjawab dengan benar.

Tabel 6. Hasil jawaban responden perilaku tenaga kefarmasian terkait obat palsu pada apotek di Kota Semarang.

Kategori Penilaian	Item Benar		Item Salah	
	N	%	N	%
Seorang pasien datang ke apotek anda dengan mengeluhkan efek samping yang akut atau serius setelah megkonsumsi obat rutin dan mengatakan jika hal ini tidak terjadi saat menggunakan obat yang sama tetapi dengan kemasan lama. Apakah anda berasumsi bahwa kemungkinan obat yang diminum pasien tersebut adalah obat palsu?	69	86,2	11	13,8
Apakah anda akan menerima untuk mendistribusikan obat jika obat tersebut masuk ke negara secara ilegal?	76	95	4	5
Apakah anda atau rekan kerja anda pernah menemui obat asing yang terbukti palsu?	72	90	8	10
Apakah anda / rekan kerja anda biasanya memiliki pertukaran produk dengan penjual dan distributor obat tanpa izin dari pabrik atau izin distribusi dari kemeterian kesehatan?	53	66,2	27	33,8
Apakah anda atau rekan kerja anda melaporkan kepada yang berwenang jika distributor obat palsu mengunjungi anda dan jika anda menemukan obat palsu di apotek anda?	65	81,2	15	18,8
Pernahkah anda mengikuti pelatihan khusus tentang mengidentifikasi obat-obatan palsu dan menangani masalah ini?	40	50	40	50

3.2. Pembahasan

3.2.1. Hubungan pengetahuan dan sikap dengan perilaku tenaga kefarmasian terkait obat palsu di apotek Kota Semarang

Pengetahuan merupakan suatu istilah yang digunakan untuk menjelaskan apabila seseorang mengenal dan memahami sesuatu yang didasarkan pengalaman tertentu yang dimiliki seseorang (Suryani, 2015). Pengetahuan tersebut dapat berguna bagi tenaga kefarmasian dalam melakukan pelayanan di apotek, terutama dalam menghadapi obat palsu. Tenaga Kefarmasian

merupakan faktor utama yang berhubungan langsung dengan dengan penerima obat dalam pencegahan peredaran obat palsu.

Pengetahuan tentang obat palsu dianalisis dengan perilaku tenaga kefarmasian terhadap obat palsu untuk mengetahui hubungan antara pengetahuan dengan perilaku tenaga kefarmasian terhadap obat palsu di apotek Kota Semarang. Uji *chi-square* pada penelitian ini diperoleh *p-value* sebesar 0,234 ($p\text{-value} < 0,05$) yang artinya bahwa tidak ada hubungan antara pengetahuan dengan perilaku. Hal ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Mubarak (2017) dimana pada penelitian tersebut juga mendapatkan hasil jika tidak memiliki makna yang signifikan. Tetapi pada hasil yang diperoleh dapat dianalisis jika pengetahuan yang baik berkorelasi positif dengan perilaku yang baik pula, hal ini menunjukkan bahwa pengetahuan akan berbanding lurus dengan perilaku. Pengetahuan dapat diperoleh seorang secara alami atau diintervensi baik langsung maupun tidak langsung. Pengetahuan adalah sesuatu yang diketahui berkaitan dengan proses pembelajaran. Proses belajar ini dipengaruhi oleh berbagai faktor dari dalam, seperti motivasi dan faktor dari luar berupa sarana informasi yang tersedia serta keadaan sosial, dan budaya (Kardewi, 2018). Penelitian lain menunjukkan bahwa tidak adanya hubungan yang signifikan antara pengetahuan dengan perilaku terkait dengan obat palsu, hal tersebut diakibatkan oleh pengetahuan dari tenaga kefarmasian yang kurang. Maka daripada itu perlu diadakan pembelajaran yang lebih lagi mengenai obat palsu dan juga perlu adanya kesadaran diri terkait dengan adanya obat palsu (Alfadl *et al.*, 2018)

3.2.2. Hubungan sikap dengan perilaku tenaga kefarmasian terkait obat palsu di apotek Kota Semarang.

Sikap adalah kecenderungan bertindak dari individu, berupa respon tertutup terhadap stimulus ataupun objek tertentu. Sikap belum merupakan suatu tindakan aktivitas, akan tetapi merupakan predisposisi tindakan suatu perilaku (Notoadmodjo, 2007). Sikap terhadap obat palsu dianalisis dengan perilaku tenaga kefarmasian terhadap obat palsu untuk mengetahui hubungan antara pengetahuan dengan perilaku tenaga kefarmasian terhadap obat palsu di apotek Kota Semarang. Penelitian ini menggunakan uji statistik *chi-square*. Uji *chi-square* pada penelitian ini diperoleh *p-value* sebesar 0,019 ($p\text{-value} < 0,05$) yang artinya bahwa terdapat hubungan antara sikap dengan perilaku tenaga kefarmasian terhadap obat palsu di apotek Kota Semarang. Sikap merupakan salah satu faktor yang memiliki pengaruh besar terhadap terjadinya perilaku seseorang yaitu faktor sosio psikologis. Faktor sosio psikologis ini sendiri terdiri dari sikap, emosi, kepercayaan, kebiasaan, dan kemauan. Sikap merupakan faktor yang sangat penting karena kecenderungan untuk bertindak dan berpersepsi (Notoadmodjo, 2007). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Shahverdi *et al.*, (2012) juga terdapat hubungan antara sikap dengan perilaku tenaga kefarmasian terhadap obat palsu.

Penelitian lain menyatakan, semakin canggih teknologi maka semakin mirip obat palsu dengan obat asli. Oleh karena itu, penggunaan teknologi seperti *scanning barcode* dapat digunakan (Chambliss *et al.*, 2012). Akan tetapi, penggunaan teknologi ini belum dapat dimiliki oleh seluruh apotek kota Semarang, sehingga adanya edukasi BPOM perlu diupayakan untuk meningkatkan pengetahuan tenaga kefarmasian terkait obat palsu.

Pada penelitian ini juga terdapat bias *social desirability*, bias tersebut yaitu adanya kecenderungan dari seseorang untuk mengisi pertanyaan kuesioner tidak pada kenyataan yang terjadi dimana responden tersebut menjawab pertanyaan sesuai dengan yang diinginkan sehingga dapat memberi kesan yang baik (Latkin *et al.*, 2017). Pertanyaan yang terindikasi memiliki bias diantaranya adalah pertanyaan tentang obat palsu yang masuk di Indonesia, pernah atau tidak menemui obat palsu di apotek dan akan melaporkan kepada pihak yang terkait jika menemukan adanya obat palsu.

4. Kesimpulan

Tidak adanya hubungan antara pengetahuan Tenaga Kefarmasian mengenai obat palsu terhadap perilaku tenaga Kefarmasian. Sedangkan terdapat hubungan antara sikap tenaga kefarmasian mengenai obat palsu terhadap perilaku Tenaga Kefarmasian. Obat palsu sulit dideteksi seiring dengan meningkatnya kecanggihan teknologi, oleh karena itu peningkatan pengetahuan terkait obat palsu perlu ditingkatkan dengan adanya edukasi dari pemerintah dan penggunaan teknologi untuk mendeteksi adanya obat palsu.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih kami tujukan kepada ibu apt. Eni Setiawati, S.Farm., M.Si dari Dinas Kesehatan Kota Semarang atas masukan terhadap penelitian ini.

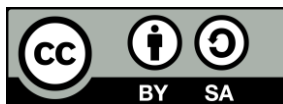
Deklarasi Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini

Daftar Pustaka

- Adhinugroho, M.Y., (2018). Peran Interpol dalam Upaya Pemberantasan Obat-Obatan Palsu di Indonesia. *Journal of International Relations*, 4(1), hal. 71-80.
- Alfadl, A., Mohamed Ibrahim, M. I., Maraghi, F. A., dan Mohammad, K. S. (2018). General Public and Community Pharmacists Perception on Counterfeit Medicines: A Preliminary Cross-sectional Study in Qatar. *Journal of Clinical and Diagnostic*, 12(1).
- BPOM RI. (2019). Penjelasan Badan Pom Terkait Temuan Obat Palsu di Semarang. <https://www.pom.go.id/new/view/more/klarifikasi/99/Penjelasan-Badan-Pom--Terkait-Temuan-Obat-Palsu-Di-Semarang.html>. Accessed 12 September 2019
- Chambliss, W.G., Carrol. W.A., Kennedy, D., dan Levine, D. (2012). Role of the pharmacist in preventing distribution of counterfeit medications. *Journal Of American Pharmacist Association*, 52(2), 195-199.

- Glass, B. (2014). Counterfeit drug and Medical devices in developing countries. *Research and Reports in tropical Medicine*, 5(11).
- Hadi, V dan B. Ichsan (2022). Faktor Yang Mempengaruhi Pengetahuan, Sikap dan Perilaku Apoteker Terhadap Vaksinasi Hepatitis B di Kota Surakarta. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 7(01), 97-106
- Kardewi, E. (2018). Hubungan Pengetahuan, Sikap dan Perilaku Terhadap Self Medication Penggunaan Obat Analgesik Bebas di Sekolah Ilmu Kesehatan Bina Husada. *Sriwijaya Journal of Medicine*, 1(1): 16-23
- Latkin, C. A., Edwards, C., Davey-Rothwell, M. A., dan Tobin, K. E. (2017). The relationship between social desirability bias and self-reports of health, substance use, and social network factors among urban substance users in Baltimore, Maryland. *Addictive behaviors*, 73, 133-136.
- Mubarok, F. I. H. (2017). Pengaruh Pengetahuan Dan Sikap Apoteker Terhadap Perilaku Apoteker Mengenai Peredaran Obat Palsu Di Kabupaten Banyumas. *Doctoral Dissertation*, Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Notoadmodjo. (2007). *Kesehatan Masyarakat Ilmu dan Seni*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Permenkes RI. (2008). *Peraturan Menteri Kesehatan RI Tentang Registrasi Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan.
- Selifani, F.N., Pratiwi, H., dan Mustikaningtias, I (2022). Analisis Tingkat Pengetahuan dan Sikap Apoteker terhadap Obat Generik di Wilayah Kabupaten Banyumas. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 7(02), 223-237, DOI: 10.20961/jpscr.v7i2.57939
- Shahverdi, S., Hajimiri, M., Pourmalek, F., Torkamandi, H., Gholami, K., Hanafi, S., Shahmirzadi, N.A., dan Javadid M. (2012). Iranian Pharmacist Knowledge, Attitude and Practice Regarding Counterfeit Drugs. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 11(3), 963
- Siregar, S. (2013). *Metode Penelitian Kuantitatif*. Jakarta: Prenada Media Group.
- Suryani, H. (2015). *Metode Riset Kuantitatif Teori dan Aplikasi Pada Penelitian Bidang Manajemen dan Ekonomi Islam*. Jakarta: Prenada Media.
- Yulianingsih, T.A., Turisno, B.E., dan Aminah. (2016). Pemberdayaan Konsumen Dalam Mencegah Peredaran Obat Palsu di Masyarakat. *Diponegoro Law Journal*, 5(4): 1-11





Aktivitas Antioksidan Kulit Jeruk Pacitan (*Citrus sinensis* L.) Terhadap Kadar SGOT dan SGPT *Rattus norvegicus* Dengan Paparan Logam Berat Timbal (Pb)

Baterun Kunsah* dan Rinza Rahmawati Samsudin

Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Surabaya, Jl. Sutorejo No 59, Kec. Mulyorejo, Kota Surabaya, Indonesia, 60113.

*email korespondensi: kunsah11980@gmail.com

Received 19 March 2022, Accepted 12 December 2022, Published 15 December 2022

Abstrak: Timbal merupakan logam yang bersifat toksik apabila terakumulasi di dalam tubuh dalam jumlah tertentu. Timbal masuk ke dalam sirkulasi darah dan beresiko menyebabkan kerusakan hati dimana dapat dilihat dengan pemeriksaan SGOT dan SGPT. Pada kondisi stres oksidatif dapat mengakibatkan terjadinya kerusakan sel hati sehingga tubuh memerlukan antioksidan eksogen, yang bisa didapatkan dari ekstrak kulit jeruk pacitan. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian Ekstrak kulit jeruk pacitan pada kadar SGOT dan SGPT *Rattus norvegicus wistar* yang diinduksi dengan menggunakan timbal asetat. Metode penelitian ini adalah quasi experimental dengan rancangan post test only control group design. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok yaitu Kelompok (G1) *Rattus norvegicus* diberi ransum pakan standar dan aquadest; (G2) diberikan Pb asetat peroral 30 mg/kgBB/hari, (G3) diberikan Pb asetat peroral 30 mg/kgBB/hari dan ekstrak kulit jeruk pacitan dosis 100 mg/kgBB/hari; (G4) diberikan Pb asetat peroral 30 mg/kgBB/hari dan ekstrak kulit jeruk pacitan dosis 200 mg/kgBB/hari; (G5) diberikan 30 mg/kgBB/hari dan ekstrak kulit jeruk pacitan dosis 300 mg/kgBB/hari. Penelitian telah mendapatkan surat keterangan layak etik No.EA/KEPK-Poltekkes_Sby/V/2022. Hasil penelitian berupa besar prosentase penurunan kadar SGOT dari kelompok G2 dengan kelompok perlakuan G3, G4 dan G5 yaitu 16%, 33%, dan 57%. Sedangkan untuk hasil penurunan kadar SGPT dari kelompok G2 dengan kelompok perlakuan G3, G4 dan G5 yaitu 25%, 34%, 46%. Kesimpulan ekstrak kulit jeruk pacitan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar SGOT dan SGPT pada *Rattus norvegicus* yang diinduksi PbCH₃COO dengan nilai signifikansi < 0,005.

Kata kunci: ekstrak kulit jeruk pacitan; SGOT; SGPT; timbal asetat

Abstract. Antioxidant Activity of Pacitan Orange (*Citrus sinensis* L.) Peels Towards *Rattus norvegicus* SGOT and SGPT Levels With Exposure To Heavy Metals Lead (Pb).

Lead is a metal that is toxic if it accumulates in the body in certain amounts. Lead will enter the blood circulation and risk causing liver damage. Biochemical tests that can be used to detect liver damage which include the examination of SGPT) and SGOT. In the conditions of oxidative stress, it can cause liver cell damage so that the body requires exogenous antioxidants, which can be obtained from extracts of pacitan orange peels. This research method is quasi experimental with post test only control group design. The sample was divided into 5 groups, namely Group (G1) mice were given standard feed ration; (G2) which was given Pb acetate orally 30 mg/kgBW/day, (G3) Given with Pb acetate orally 30 mg/kg BW/day and pacitan orange peel extract a dose of 100 mg/kgBW/day; (G4) given with Pb acetate orally 30 mg/kgBW/day and pacitan orange peel extract a dose of 200 mg/kgBW/day; (G5) given with 30 mg/kgBW/day and pacitan orange peel extract at a dose of 300 mg/kgBW/day. The research has obtained an ethical certificate No. EA/KEPK-Poltekkes_Sby/V/2022. The results of the

study were the percentage of decrease in SGOT levels from the G2 group to the G3, G4 and G5 treatment groups, namely 16%, 33%, and 57%. Meanwhile, the results of the reduction in SGPT levels from the G2 group to the G3, G4 and G5 treatment groups were 25%, 34%, 46% respectively. The conclusion is pacitan orange peel extract had a significant effect on the levels of SGOT and SGPT in *Rattus norvegicus* induced by PbCH₃COO with a significance value < 0.005.

Keywords: pacitan orange peel extract; SGOT; SGPT; lead acetate

1. Pendahuluan

Aktivitas industri dan transportasi yang terus berkembang dan mengalami peningkatan memberikan dampak negatif terhadap lingkungan, berupa pencemaran lingkungan. Salah satu bahan pencemar yang telah banyak diketahui keberadaannya di lingkungan adalah timbal (Pb). Timbal bisa berasal dari banyak sumber termasuk bensin, limbah industri, cat, solder dalam makanan kaleng dan pipa air. Jalur penyebaran untuk menjangkau orang dapat melalui seperti udara, debu rumah tangga, kotoran jalanan, tanah, air dan makanan (Zhang *et al.*, 2015). Evaluasi kontribusi relatif dari sumber yang berbeda menjadi kompleks dan cenderung berbeda antara wilayah dan kelompok populasi (Clune *et al.*, 2011). Bensin yang mengandung timbal tetap menjadi sumber timbal yang paling penting di atmosfer dan merupakan kontributor yang signifikan terhadap beban timbal di dalam tubuh (Clark & Knudsen, 2013). Emisi industri juga merupakan sumber penting kontaminasi timbal pada tanah dan udara sekitar (Liang & Ghaffari, 2014). Timbal dari udara atmosfer atau cat terkelupas yang disimpan di tanah dan debu dapat dicerna oleh anak-anak dan secara substansial dapat meningkatkan kadar timbal darah mereka (Hai *et al.*, 2018). Selain itu, makanan dan air juga bisa menjadi media penting untuk paparan awal terhadap timbal (Brown & Margolis, 2012). Cemarkan timbal juga teridentifikasi pada berbagai makanan dan minuman dalam kemasan kaleng walaupun dengan jumlah yang sedikit (Kunsah *et al.*, 2021). Cemarkan timbal juga teridentifikasi pada sediaan kosmetik dengan kadar $23,1683 \pm 0,1225$ mg/kg pada sediaan lipstick yang beredar di Kota Surakarta (Yugatama, 2019).

Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME) memperkirakan bahwa pada tahun 2016 paparan timbal menyumbang 540.000 kematian di seluruh dunia karena efek jangka panjang pada kesehatan. Dampak timbal (Pb) yang bisa memicu timbulnya gangguan kesehatan seperti penurunan kecerdasan anak dan kemampuan akademik dan bisa mempengaruhi kualitas bangsa Indonesia di masa depan. Timbal (Pb) telah menyebabkan hipertensi pada 20% orang dewasa dan juga pada 29% anak-anak karena timbal (Pb) terakumulasi dalam darah (Suparwoko & Firdaus, 2007). Timbal adalah racun lingkungan yang persisten, yang secara alami ada di lingkungan; kegiatan antropogenik telah meningkatkan beban lingkungan dan membuat populasi berisiko karena berbagai sumber paparan. Paparan timbal dapat

menyebabkan berbagai gejala sistem saraf, seperti sering sakit kepala, mual, kolik, tremor, hingga mati rasa pada anggota badan (Hanna-Attisha *et al.*, 2016). Timbal yang masuk kedalam tubuh melalui pemaparan (makanan, udara, kulit) akan masuk ke sirkulasi darah. Timbal yang masuk ke dalam darah akan menghambat sintesis heme sehingga akan mengurangi produksi hemoglobin (Hb) darah yang dapat berakibat munculnya gangguan Kesehatan. Selain itu, timbal juga akan berikatan dengan eritrosit dan dimetabolisme di tubuh. Organ yang berperan dalam metabolisme zat-zat di tubuh adalah hati. Sehingga hati sangat berisiko mengalami kerusakan akibat paparan timbal (Muliyadi, 2015).

Kerusakan hati yang diakibatkan oleh timbal adalah timbal dalam kadar tertentu dapat menginduksi pembentukan radikal bebas dan menurunkan kemampuan sistem antioksidan tubuh sehingga dengan sendirinya akan terjadi *stres oksidatif*. Stres oksidatif adalah keadaan yang tidak seimbang antara antioksidan yang ada dalam tubuh dengan produksi senyawa *reactive oxygen species* (ROS). Stres oksidatif dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid membran dan sitosol yang mengakibatkan terjadinya serangkain reduksi asam lemak sehingga merusak organisasi membran dan organel sel. Membran sel sangat penting bagi fungsi reseptor, terjadinya peroksidasi lipid membran akan mengakibatkan hilangnya fungsi sel secara total, dan jika hal ini berlanjut dapat menyebabkan terjadinya kematian sel dan memicu penyakit degenerative (Sari *et al.*, 2014). Apabila telah terjadi kerusakan sel maka dapat dideteksi dengan pemeriksaan biokimia, salah satunya adalah pemeriksaan Serum Glutamate Oxaloacetic Transaminase (SGOT) dan Serum Glutamate Pyruvate Transaminase (SGPT). Kedua enzim ini digunakan sebagai indikator pada pemeriksaan fungsi hati, dimana kadarnya akan meningkat dalam darah ketika sel-sel hati mengalami kerusakan. Namun, SGOT tidak spesifik hanya terdapat di dalam hati, melainkan juga terdapat dalam sel darah, jantung dan otot. Kadar SGOT yang tinggi tidak bisa secara langsung menunjukkan adanya kelainan pada sel hati, sehingga diperlukan pemeriksaan SGPT, karena enzim ini lebih spesifik menunjukkan adanya kerusakan di hati (Clarasanti *et al.*, 2016).

Rattus norvegicus putih yang dipaparkan timbal asetat menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan SGPT dan SGOT *Rattus norvegicus*, pada kondisi stres oksidatif yang dapat mengakibatkan terjadinya kerusakan sel hati, tubuh memerlukan antioksidan eksogen, antioksidan dari ekstrak rumput laut merah mampu untuk menurunkan secara signifikan kadar SGOT dan SGPT pada *Rattus norvegicus* yang diberikan paparan timbal asetat (Sudjarwo & Farida, 2018). Ekstrak daun kari (*Vasconcellea pubescens* A.D.) juga terbukti mampu menurunkan kadar SGPT dan SGOT secara signifikan bila dibandingkan dengan kontrol negative pada tikus jantan yang diinduksi parasetamol (Sasongko & Sugiyarto,

2018). Penelitian yang lain juga menyatakan bahwa adanya efek proteksi antioksidan dengan pemberian ekstrak daun jambang terhadap peningkatan aktivitas SGPT *Rattus norvegicus* yang diinduksi timbal asetat (Zarwin *et al.*, 2020).

Antioksidan yang dapat digunakan adalah antioksidan yang didapatkan dari ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinnensis* L.). Senyawa antioksidan yang dihasilkan sebagian besar berupa senyawa fenolik dan flavonoid, ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinnensis* L.) dapat menstimulus regenerasi sel pada proses penyembuhan luka bakar secara signifikan dikarenakan karena kandungan antioksidan yang tinggi yang dimiliki oleh ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinnensis* L.) (Samsudin *et al.*, 2018). Dengan demikian, ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinnensis* L.) mungkin memiliki manfaat sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas yang diinduksi oleh kerusakan hati yang diakibatkan oleh timbal. Peneliti tertarik untuk meneliti Ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinnensis* L.) tersebut untuk membuktikan efek serta manfaat yang ditimbulkan terhadap hewan coba yang terpapar timbal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkaji aktivitas antioksidan dari Ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinnensis* L.) pada kadar SGOT dan SGPT pada *Ratus norvegicus* yang diinduksi dengan menggunakan timbal asetat.

2. Bahan dan Metode

2.1. Alat dan bahan

Alat yang digunakan antara lain pengukuran kadar SGPT dan SGOT diperiksa menggunakan alat *mikrolab 300* dengan metode pemeriksaan *Kinetic IFC*, sonde, spluit, kandang wistar, alat gelas. Bahan yang digunakan Timbal asetat diperoleh dari Sigma-Aldrich (Amerika Serikat; Cat No 6080-56-4 dan 458-37-7), kulit jeruk pacitan, pakan standart, air mineral.

2.2. Metode penelitian

2.2.1. Pembuatan ekstrak kulit jeruk pacitan

Kulit jeruk pacitan sebanyak 1,5 kg dihilangkan bagian dalam yang berwarna putih (albedo) dengan pisau sehingga hanya disisakan kulit jeruk bagian terluarnya (flavedo), dipotong kecil – kecil agar lebih cepat kering, kemudian diletakkan dalam cawan petri, dikeringkan dalam oven selama ± 1 hari dengan suhu 60°C, dihaluskan menggunakan blender. Serbuk simplisia kulit jeruk pacitan ditimbang 50 gram kemudian dibungkus dengan kertas saring dan masukkan dalam soxhlet chamber, pasang labu destilasi dibagian bawah, ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 2x sirkulasi (± 300 ml), kemudian pasang pendingin balik/condensor diatasnya, labu destilasi dipanaskan untuk memulai proses sokhletasi, proses sokhletasi dilakukan sampai pelarut di soxhlet chamber terlihat jernih. Ekstrak dalam labu

destilasi ditampung dan diuapkan untuk menghilangkan etanol 96% (Departemen Kesehatan RI, 2000).

2.2.2. Identifikasi senyawa flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan menambahkan pereaksi MgHCl. Ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinnensis* L.) sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan HCl pekat 2 tetes, dihomogenkan, kemudian ditambahkan serbuk Mg. Positif flavonoid ditunjukkan dengan adanya warna jingga dan muncul buih (Ridwanuloh & Syarif, 2019).

2.2.3. Identifikasi vitamin C

Ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinnensis* L.) sebanyak 5 tetes dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 15 tetes pereaksi benedict. Tabung reaksi dipanaskan di atas api kecil sampai mendidih selama 2 menit. Perhatikan adanya endapan yang terbentuk. Warna hijau kekuningan sampai merah bata menandakan vitamin C positif (Rusdin & Wulandari, 2022).

2.2.4. Preparasi hewan uji dan penetapan dosis

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Rattus norvegicus* putih jantan galur wistar yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan berkisar 150-200 gram. Berat badan hewan ditimbang di awal sebelum pengujian. Pengujian dilakukan pengelompokan secara acak, terdiri dari 30 ekor *Rattus norvegicus* yang dibagi menjadi Kelompok (G1) *Rattus norvegicus* diberi ransum pakan standar dan aquadest, Kelompok (G2) *Rattus norvegicus* diberi ransum pakan standar, aquades dan Pb asetat peroral 30 mg/kgBB/hari, Kelompok (G3) *Rattus norvegicus* diberi ransum pakan standar, Pb asetat peroral 30 mg/kgBB/hari dan ekstrak kulit jeruk pacitan dosis 100 mg/kgBB/hari, Kelompok (G4) *Rattus norvegicus* diberi ransum pakan standar, Pb asetat peroral 30 mg/kgBB/hari dan ekstrak kulit jeruk pacitan dosis 200 mg/kgBB/hari dan Kelompok (G5) *Rattus norvegicus* peroral 30 mg/kgBB/hari dan ekstrak kulit jeruk pacitan dosis 300 mg/kgBB/hari. Penelitian telah mendapatkan izin dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya dengan surat keterangan layak etik No.EA/KEPK-Poltekkes_Sby/V/2022.

2.2.5. Pengambilan dan pemeriksaan darah

Pengambilan darah dilakukan pada akhir pengujian. Darah diambil dari vena mata menggunakan mikropipet sebanyak 3 ml. Darah kemudian dimasukan ke dalam tabung sentrifuse, kemudian disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya serum dipisahkan dan disimpan dalam lemari beku (-20°C) untuk pemeriksaan SGOT dan SGPT. Pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT menggunakan metode IFCC dengan Panjang

gelombang 340 nm, analisa dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer. Pemeriksaan SGOT dan SGPT dalam serum dilakukan pada awal pengujian (t0) dan 28 hari (t28). Pengujian dilakukan dengan cara memipet 100 μ L serum uji dan direaksikan dengan 1000 μ L *working reagent* (perbandingan buffer substrat 4 : 1) dalam tabung reaksi, dihomogenkan. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer suhu 37°C panjang gelombang 340 nm (Guder *et al.*, 2002).

2.2.6. Analisa data

Analisis data menggunakan program SPSS for Windows® versi 25, dilakukan uji normalitas, homogenitas dan jika telah memenuhi syarat homogenitas kemudian dilanjutkan dengan uji beda menggunakan prinsip uji ANOVA.

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil uji identifikasi senyawa flavonoid dari ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinnensis* L.) menunjukkan adanya senyawa flavonoid dengan indikasi perubahan warna dari kuning menjadi jingga setelah ditambahkan pereaksi. Penambahan logam Mg dan HCl pada identifikasi senyawa flavonoid bertujuan untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terjadi perubahan warna menjadi jingga atau merah ungu yang membentuk garam flavillium ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil uji identifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinnensis* L.) yang menunjukkan reaksi positif dengan adanya perubahan warna dari kuning menjadi jingga.



Gambar 2. Hasil uji identifikasi vitamin C yang menunjukkan reaksi positif dengan terbentuknya endapa berwarna merah bata.

Uji vitamin C dilakukan dengan menambahkan pereaksi benedict. Hasil uji identifikasi vitamin C dari ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinnensis* L.) menunjukkan adanya vitamin C

dengan indikasi terbentuk endapan berwarna merah bata setelah ditambahkan pereaksi dan dipanaskan selama 5 menit ditunjukkan pada Gambar 2.

Tabel 1. Nilai rata-rata SGOT dan SGPT pada *Rattus norvegicus* dengan paparan logam berat timbal (Pb) setelah pemberian ekstrak kulit jeruk pacitan (*Citrus sinnensis* L.). Perbedaan huruf menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) pada masing-masing parameter. Keterangan G1: *Rattus norvegicus* diberi ransum pakan standar dan aquadest; G2 : *Rattus norvegicus* diberikan Pb asetat peroral 30 mg/kgBB/hari; G3 : *Rattus norvegicus* diberikan Pb asetat peroral 30 mg/kgBB/hari dan ekstrak kulit jeruk pacitan dosis 100 mg/kgBB/hari; G4 : *Rattus norvegicus* diberikan Pb asetat peroral 30 mg/kgBB/hari dan ekstrak kulit jeruk pacitan dosis 200 mg/kgBB/hari; G5 : *Rattus norvegicus* diberikan 30 mg/kgBB/hari dan ekstrak kulit jeruk pacitan dosis 300 mg/kgBB/hari.

Grup	SGOT (μL)	SGPT (μL)
G1	$36,50 \pm 0,992^{abcd}$	$31,17 \pm 1,493^{bcd}$
G2	$116,83 \pm 1,621^{abcde}$	$64,83 \pm 1,701^{acde}$
G3	$98,00 \pm 0,730^{abcde}$	$48,33 \pm 0,803^{abe}$
G4	$77,83 \pm 2,056^{abcde}$	$43,00 \pm 0,966^{abe}$
G5	$50,33 \pm 1,202^{abcde}$	$35,17 \pm 1,302^{bcd}$

Kadar SGOT dalam darah *Rattus norvegicus* pada kondisi normal adalah 10-40 μL dan kadar SGPT dalam darah *Rattus norvegicus* 4-30 μL (Nurfatwa, 2018). Hasil penelitian menunjukkan kadar SGOT dan SGPT (Tabel 1) pada (G1) adalah $36,50 \pm 0,992 \mu\text{L}$ dan $31,17 \pm 1,493 \mu\text{L}$ (G2) adalah $116,83 \pm 1,621 \mu\text{L}$ dan $64,83 \pm 1,701 \mu\text{L}$. Hasil penelitian pada kelompok perlakuan dengan menggunakan ekstrak kulit jeruk pacitan dengan ragam dosis sebesar 100 mg/kgBB/hari (G3), 200 mg/kgBB/hari (G4), dan 300 mg/kgBB/hari diperoleh nilai SGOT dan SGPT berurutan sebesar ($98,00 \pm 0,730 \mu\text{L}$ dan $48,33 \pm 0,803 \mu\text{L}$), ($77,83 \pm 2,056 \mu\text{L}$ dan $43,00 \pm 0,966 \mu\text{L}$), ($50,33 \pm 1,202 \mu\text{L}$ dan $35,17 \pm 1,302 \mu\text{L}$).

Hasil olah uji normalitas didapatkan data p value $> 0,005$ memiliki makna sebaran data terdistribusi normal, sedangkan pada uji homogenitas didapatkan hasil bahwa data terdistribusi homogen dengan nilai p 0,000 dan bersifat homogen dengan nilai p value SGOT $> 0,005$ yaitu nilai $p = 0,349$ dan nilai p value SGPT $> 0,005$ yaitu nilai $p = 0,778$. Hasil olah data homogenitas diuji dengan menggunakan prinsip Saphiro wilk, menunjukan bahwa kedua parameter SGOT dan SGPT telah memenuhi syarat homogenitas kemudian dilanjutkan dengan uji beda menggunakan prinsip ANOVA. Hasil Anova pada parameter SGOT dan SGPT keduanya memiliki hasil olah signifikan 0,000. Nilai $p < 0,005$ memiliki makna bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada setiap kelompok. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ada pengaruh yang signifikan pada kadar SGPT dan SGOT yang mendapatkan paparan timbal asetat dan ekstrak kulit jeruk pacitan.

Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (SGOT) atau sering disebut AST (aspartate aminotransferase) dan Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT) atau juga sering disebut ALT (alanin aminotransferase) merupakan suatu enzim yang dapat untuk memperkirakan kerusakan suatu sel terutama organ hati (Gowda *et al.*, 2009). Nilai SGPT merupakan parameter spesifik pada kerusakan hati, sementara nilai SGOT tidak spesifik sebagai parameter kerusakan hati, karena juga terdapat pada kasus infark miokardial, nekrosis otot, ginjal, otak dan hemolisis intravaskuler.

Paparan timbal (Pb) sebanyak 30 mg/kgBB/hari dalam penelitian ini menunjukkan hasil peningkatan nilai SGOT dan SGPT. Peningkatan tersebut dapat terjadi pengaruh dari timbal dalam tingkat selular berperan sebagai radikal bebas dengan cara memicu terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS), semakin banyak ROS maka semakin berkurang antioksidan dalam tubuh. Selanjutnya protein sel akan mengalami kerusakan, hal tersebut berdampak buruk terhadap kerja enzim, reseptor, transpor membran dan DNA sebagai target utama oksidatif sehingga akan berujung pada kematian sel (Lobo *et al.*, 2010).

Kerusakan pada hati dapat terdeteksi dengan adanya sekelompok enzim yang masuk dalam plasma darah dan merupakan indikator untuk mengidentifikasi kerusakan atau nekrosis hati yaitu enzim transaminase salah satu contohnya enzim Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT) akan keluar dan masuk dalam peredaran darah, sehingga pemeriksaan biokimia pada serum akan timbul kenaikan kadar SGPT (Margina *et al.*, 2012). Enzim ini berperan pada metabolisme asam amino yaitu reaksi pemindahan gugus NH₂ dari suatu asam amino ke alfa-keto sehingga terbentuk asam alfa-keto yang baru dan asam amino yang baru.

Timbal akan menjadi radikal bebas dengan mengganggu ikatan disulfida dan menghambat kerja beberapa enzim seperti enzim glutathione reductase, glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT) dan superoxide dismutase (SOD). Glutathione reductase merupakan enzim yang nantinya mengubah GSSG (Glutathione disulfide) menjadi GSH (Ercal *et al.*, 2002). Pada proses metabolisme sel, maka oksigen akan mengalami proses reduksi dan mendapatkan tambahan empat elektron sehingga menjadi air, pada saat ini kemungkinan timbal juga menjadi salah satu logam yang menerima elektron dari oksigen sehingga akan terbentuk hidrogen peroksida (H₂O₂) dan radikal hidroksil (OH⁻) yang merupakan radikal bebas dalam sel (Samsudin *et al.*, 2017). Kenaikan kadar serum glutamat piruvat transaminase (SGPT) dan serum glutamat oksaloasetat transaminase (SGOT) adalah parameter spesifik terjadinya kerusakan fungsi hati khususnya SGPT (Gowda *et al.*, 2009).

Timbal merusak sel dengan meningkatkan jumlah ikatan rangkap asam lemak membran sel, hal tersebut ikut menaikkan konsentrasi malondialdehid (MDA) yang merupakan penanda

dari terjadinya stres oksidatif dan membuat membran sel rentan terhadap peroksidasi lipid. Membran sel yang rusak akibat peroksidasi lipid akan menghambat kerja pompa ion natrium-kalium sehingga keseimbangan osmotik lingkungan sel terganggu. Mitokondria sebagai organel penghasil energi sel (ATP) juga akan ikut terganggu. Gangguan pada membran dan mitokondria akan menyebabkan masuknya air ke intra seluler yang kemudian membentuk vakuola-vakuola yang berwarna jernih dan banyak, proses ini akan tetap berlanjut selama paparan radikal bebas masih ada. Degenerasi sel dapat terjadi jika sel tersebut tidak dapat lagi beradaptasi dan mempertahankan keutuhannya, degenerasi yang terjadi berupa degenerasi parenkimatosus dan degenerasi hidropik (Park *et al.*, 2015).

Enzim ALT merupakan enzim yang dibuat di dalam sel hati (hepatosit). Banyak terdapat pada organ hati, sedangkan sedikit ditemui dalam jantung serta otot-otot skelet jika dibandingkan dengan AST. Enzim ini banyak dijumpai pada organ hati terutama pada mitokondria. Serta memiliki fungsi yang sangat penting dalam pengiriman karbon dan nitrogen dari otot ke hati. Dalam otot rangka, piruvat ditransaminasi menjadi alanin sehingga menghasilkan penambahan rute transport nitrogen dari otot ke hati. Enzim ini lebih spesifik ditemukan pada hepar terutama di sitoplasma sel-sel parenkim hepar. Kadar enzim ALT dalam serum akan meningkat terutama pada kerusakan dalam hati. Kenaikan kadar tersebut terjadi akibat adanya kerusakan sel-sel hati oleh virus, obat-obatan atau toksin. Kenaikan kembali atau bertahannya enzim ALT yang tinggi menunjukkan berkembangnya kelainan dan nekrosis hati. Kadar ALT merupakan ukuran nekrosis hepatoseluler yang paling spesifik dan banyak digunakan. Pada kerusakan hati akut, peningkatan ALT lebih besar daripada AST sehingga ALT bisa dipakai sebagai indikator untuk melihat kerusakan sel. Kadar ALT juga lebih sensitif dan spesifik daripada kadar AST dalam mendeteksi penyakit hati. Enzim ini yang banyak ditemukan pada organ hati terutama sitosol. Dalam transaminase pada glutamat oksaloasetat transaminase diperlukan oleh tubuh untuk mengurangi kelebihan amonia. Enzim ini lebih spesifik ditemukan pada organ jantung, otot, pankreas, paru-paru, dan otot skelet. Enzim ini berfungsi untuk mengkatalis pemindahan amino dari alanin ke α -ketoglutarat. Produk dari reaksi transaminase reversibel adalah piruvat dan glutamate (Antai *et al.*, 2009).

Limbah yang berjumlah banyak dihasilkan dalam rantai pasokan makanan, kulit jeruk menawarkan potensi yang sangat besar untuk dimanfaatkan sebagai produk bernilai tambah, termasuk untuk pemulihan antioksidan alami, pektin, enzim atau untuk produksi etanol, asam organik, minyak esensial dan protein sel tunggal prebiotik. Penelitian ini menggunakan kulit jeruk pacitan, golongan *Citrus sinensis*. Banyak sekali kandungan yang terdapat pada bagian kulit *Citrus sinensis* merupakan sumber yang kaya vitamin C dan flavonoid. Kulit jeruk dibagi

menjadi dua bagian utama, epikarp dan mesokarp. Epikarp adalah permukaan perifer berwarna, sebagian besar terbuat dari sel parenkim dan kutikula. Epikarp ditutupi dengan epidermis lilin epikutikular dengan banyak kelenjar minyak aromatik kecil yang memberikan bau khusus. Mesocarp adalah lapisan tengah berwarna putih keputihan yang terletak di bawah epikarp (Favela-Hernández *et al.*, 2016).

Senyawa flavonoid yang terkandung pada kulit jeruk pacitan sebagai antioksidan yang berperan sebagai senyawa yang mampu menghambat radikal bebas yaitu sebagai reduktan atau pemberi elektron (Winarsih, 2007). Kedua, flavonoid berfungsi sebagai *chelating agent* yang memungkinkan senyawa tersebut berikatan dengan ion logam (Lindawati & Anggraini, 2020). Ketiga, menginduksi pembentukan enzim antioksidan alami tubuh seperti enzim superoksida dismutase (SOD), catalase dan glutathione reductase dan menekan enzim-enzim pembentuk radikal bebas seperti xanthine oxidase, protein kinase C, cyclooxygenase, NADPH oxidase (Amalina *et al.*, 2021).

4. Kesimpulan

Hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak kulit jeruk pacitan terhadap kadar SGOT-SGPT *Rattus norvegicus* yang dipapar timbal. Ekstrak kulit jeruk pacitan memberikan prosentase penurunan kadar SGOT dari kelompok G2 dengan kelompok perlakuan G3 (100 mg/kgBB/hari), G4 (200 mg/kgBB/hari) dan G5 (300 mg/kgBB/hari) yaitu 16%, 33%, dan 57%. Sedangkan untuk hasil penurunan kadar SGPT dari kelompok G2 dengan kelompok perlakuan G3 (100 mg/kgBB/hari), G4 (200 mg/kgBB/hari) dan G5 (300 mg/kgBB/hari) yaitu 25%, 34%, 46%. Ekstrak kulit jeruk pacitan berpotensi untuk menjadi salah satu alternatif pengobatan herbal untuk kerusakan hati yang disebabkan oleh paparan logam berat.

Ucapan Terimakasih

Melalui kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada Majelis Dikti Litbang PP Muhammadiyah, Kepala LPPM Universitas Muhammadiyah Surabaya, Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya, Kepala Laboratorium Biokimia IKD Unair atas kesempatan yang diberikan segala Suport dan motivasi untuk menyelesaikan penelitian.

Deklarasi Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

Daftar Pustaka

Amalina, N. D., Mursiti, S., dan Marianti, A. (2021). Mengungkap Potensi Aktivitas Antikanker Senyawa Citrus Flavonoid (*Citrus sp.*). *Pemanfaatan Sumber Daya Alam Indonesia: Ketahanan Pangan, Energi Dan Material Maju*, 1–39.

- Antai, A. B., Eyong, E. U., Eteng, M. U., Itam, E. H., Eko, M. E., dan Ita, S. O. (2009). Serum protein and enzyme levels in rats following administration of ethanolic leaf extract of *Ageratum conyzoides* (goat weed). *Nigerian Journal of Physiological Sciences*, 24(2).
- Brown, M. J., dan Margolis, S. (2012). Lead in drinking water and human blood lead levels in the United States. *Morbidity and Mortality Weekly Report. Surveillance Summaries (Washington, D.C. : 2002)*, 61 Suppl, 1–9.
- Clarasanti, I., Wongkar, M. C. P., dan Waleleng, B. J. (2016). Gambaran enzim transaminase pada pasien tuberkulosis paru yang diterapi dengan obat-obat anti tuberkulosis di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *E-CliniC*, 4(1), 1–6.
- Clark, J. J., dan Knudsen, A. C. (2013). Extent, Characterization, and Sources of Soil Lead Contamination in Small-Urban Residential Neighborhoods. *Journal of Environmental Quality*, 42(5), 1498–1506. <https://doi.org/10.2134/jeq2013.03.0100>
- Clune, A., Falk, H., dan Riederer, A. (2011). Mapping Global Environmental Lead Poisoning in Children. *Blacksmith Institute Journal of Health and Pollution*, 1(2). <https://doi.org/10.5696/jhp.v2i2.26>
- Departemen Kesehatan RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI
- Ercal, N., Gurer-Orhan, H., dan Aykin-Burns, N. (2001). Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Current topics in medicinal chemistry*, 1(6), 529-539.
- Favela-Hernández, J. M. J., González-Santiago, O., Ramírez-Cabrera, M. A., Esquivel-Ferriño, P. C., dan Camacho-Corona, M. D. R. (2016). Chemistry and pharmacology of *Citrus sinensis*. *Molecules*, 21(2). <https://doi.org/10.3390/molecules21020247>
- Gowda, S., Desai, P. B., Hull, V. V., Math, A. A. K., Vernekar, S. N., dan Kulkarni, S. S. (2009). A review on laboratory liver function tests. *The Pan African Medical Journal*, 3(17).
- Guder, W. G., Ehret, W., da Fonseca-Wollheim, F., Heil, W., Müller-Plathe, O., Schmitt, Y., Darmstadt., Topfer, G., Golitz, H., Wisser., Mannheim & Zwata, B. (2002). Die Qualität diagnostischer Proben/The Quality of Diagnostic Samples. *LaboratoriumsMedizin*, 26(5-6), 267-283.
- Hai, D. N., Tung, L. Van, Van, D. K., Binh, T. T., Phuong, H. L., Trung, N. D., Son, N. D., Giang, H. T., Hung, N. M., dan Khue, P. M. (2018). Lead Environmental Pollution and Childhood Lead Poisoning at Ban Thi Commune, Bac Kan Province, Vietnam. *BioMed Research International*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/5156812>
- Hanna-Attisha, M., LaChance, J., Sadler, R. C., dan Schnepf, A. C. (2016). Elevated blood lead levels in children associated with the flint drinking water crisis: A spatial analysis of risk and public health response. *American Journal of Public Health*, 106(2), 283–290. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2015.303003>
- Kunsah, B., Kartikorini, N., dan Ariana, D. (2021). Analisa Cemaran Logam Berat (Pb, Cd, Zn) Pada Makanan Dan Minuman Kemasan Kaleng Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). *The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, 4(1), 100. <https://doi.org/10.30651/jmlt.v4i1.7604>
- Liang, R., dan Ghaffari, S. (2014). Stem Cells, Redox Signaling, and Stem Cell Aging. *Antioxidants & Redox Signaling* 20(12), 1902–1916.
- Lindawati, N. Y., dan Anggraini, R. (2020). Pemanfaatan Ekstrak Etanol Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) sebagai Chelating Agent Logam Berat Cu dengan Metode SSA. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 6(2), 295–302. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2020.v6.i2.15198>
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., dan Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118–126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>
- Margina, D., Ilie, M., Manda, G., Neagoe, I., Mocanu, M., Ionescu, D., Gradinaru, D., dan

- Ganea, C. (2012). Quercetin and epigallocatechin gallate effects on the cell membranes biophysical properties correlate with their antioxidant potential. In *General Physiology and Biophysics* 31(1), pp. 47–55. https://doi.org/10.4149/gpb_2012_005
- Muliyadi, M. (2015). Paparan Timbal Udara Terhadap Timbal Darah, Hemoglobin, Cystatin C Serum Pekerja Pengecatan Mobil. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 11(1), 87. <https://doi.org/10.15294/kemas.v11i1.3519>
- Nurfatwa, M. (2018). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Buah Okra (*Abelmoschus esculatus* L. Moench) Terhadap Parameter Kadar Sgot Dan Sgpt Serta Histopatologi Hepar Tikus Galur Wistar. *Journal of Pharmacopolium*, 1(2), 88–93.
- Park, M.A., Mueller, P.S., Kyle, R.A., Larson, D.R., dan Plevak, M.F. G. M. (2015). Primary (AL) hepatic amyloidosis: clinical features and natural history in 98 patients. *Medicine (Baltimore)*, 82(5), 291–8. <https://doi.org/10.1097/01.md.0000091183.93122.c7>
- Ridwanuloh, D., dan Syarif, F. (2019). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Batang Ciplukan (*Physalis angulata* L.). *Pharma Xplore : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(1), 288–296. <https://doi.org/10.36805/farmasi.v4i1.619>
- Rusdin, A., dan Wulandari, S. L. (2022). Aisyah Uji Kualitatif Vitamin C pada Minuman Kemasan. *Jurnal Holan*, 1(2), 33–35.
- Samsudin, R. R., Kunsah, B., dan Widyastuti, R. (2017). The effect of pacitan's sweet orange's (*Citrus sinensis* (L.) osbeck) peel powder on the lipid profile of male dyslipidemia rats (*Rattus novergicus*). *Bali Medical Journal*, 6(3), 51.
- Samsudin, R. R., Riesti, A., dan Arimurti, R. (2018). Potensi Ekstrak Kulit Jeruk Pacitan (*Citrus sinensis*) Sebagai Stimulus Regenerasi Sel Pada Luka Bakar *Rattus norvegicus*. *Jurnal Labora Medika*, 2(2), 19–23.
- Sari, W. M., Wahdaningsih, S., dan Untari, E. K. (2014). Efek Fraksi n-Heksana Kulit *Hylocereus polyrhizus* Terhadap Kadar Malondialdehida Tikus Stres Oksidatif. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 1(3), 154–165.
- Sasongko, H., dan Sugiyarto, S. (2018). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Karika (*Vasconcellea pubescens* A.DC.) Terhadap Nilai SGPT dan SGOT pada Tikus Jantan yang Diinduksi Paracetamol. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 3(2), 70. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v3i2.21796>
- Sudjarwo, G. W., dan Farida, N. (2018). Efektifitas Nephroprotektor Ekstrak Rumput Laut Merah (*Eucheuma cottonii*) Pada Mencit Yang Diinduksi Dengan Logam Berat Timbal. *Journal Of Pharmacy Science And Technology*, 1(1), 67–59.
- Suparwoko, S., dan Firdaus, F. (2007). Profil Pencemaran Udara Kawasan Perkotaan Yogyakarta: Studi Kasus di Kawasan Malioboro, Kridosono, dan UGM Yogyakarta. *Jurnal Logika*, 4(2), 54–63. <https://doi.org/10.20885/logika.vol4.iss2.art6>
- Winarsih, H. (2007). *Antioksidan Alami dan Radikal*. Yogyakarta: Kanisius.
- Yugatama, A. (2019). Analisis Kandungan Timbal dalam Beberapa Sediaan Kosmetik yang Beredar di Kota Surakarta. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*
- Zarwin, A. O., Rita, R. S., dan Desmawati, D. (2020). Efek Proteksi Pemberian Ekstrak Daun Jamblang (*Syzygium cumini*) Terhadap Peningkatan Aktivitas Serum Glutamate Pyruvate Transaminase Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan Yang Diinduksi Timbal Asetat. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*, 1(2).
- Zhang, R., Wilson, V. L., Hou, A., dan Meng, G. (2015). Source of lead pollution , its influence on public. *Int. J. of Health, Animal Science and Food Safety*, 2(1), 18–31. <https://doi.org/10.13130/2283-3927/4785>

