



**JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCE
AND CLINICAL RESEARCH**

Original Research Articles

Kualitas Hidup Pasien Kanker Payudara Menggunakan Kuesioner QLQ BR-23 di Rumah Sakit Kanker Dharmais Jakarta Barat 186-199

Numlil Khaira Rusdi, Iskandar Iskandar, Maifitrianti Maifitrianti, Nurhasnah Nurhasnah, Endang Sulistyarningsih, Lia Desviana Safitri

Pemanfaatan Media Sosial Dalam Meningkatkan Pengetahuan dan Kepatuhan Pasien Diabetes Melitus 200-208

Siwi Padmasari, Sugiyono Sugiyono

Tamanu Oil (*Calophyllum inophyllum* L.) Promotes Wound-Healing Activity in Alloxan-Induced Diabetic Rats, and Its Fatty Acids Profile 209-216

Rita Rakhmawati, Saptono Hadi, Ahmad Ainurofiq, Estu Retnaningtyas Nugraheni, Syaiful Choiri, Tiara Dewi Salindri Pratama

Antibiofilm Activities of Bioactive Compounds of Local Edible Flowers in Indonesia: A Review 217-231

Anwar Rovik, Laelatul Affah, Nur Rokhmalia, Vania Uly Andyra, Richad Richad

Therapeutic Potential of Bovine Lactoferrin to Reduce Brain Malondialdehyde Levels in Hyperlipidemia-Induced Sprague-Dawley Rats 232-241

Havian Daulung Telium, Tena Djuartina, Dion Notario, Linawati Hananta

The Relationship of *In Vitro* Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity with Total Phenolic and Flavonoids Content of *Tithonia diversifolia* Leaves Ethanol Extract and Fractions 242-255

Endah Puspitasari, Nuri Nuri, Siti Muslichah, Bawon Triatmoko, Dewi Dianasari

Autentikasi Minyak Biji Jagung *Zea mays* L.: Pengaruh Metode Ekstraksi dan Analisis Komposisi Menggunakan Metode Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) 256-267

Justitia Cahyani Fadli, Any Guntarti, Nina Salamah

Formulasi dan Uji Antibakteri Formula Optimum Gel Kitosan Kulit Udang *Vannamei* (*Litopenaeus vannamei*) sebagai Antiakne 268-281

Naniek Widyaningrum, Fita Nadia Septiana, Rina Wijayanti, Thendi Abdul Arief

Nanoemulgel Formulation of Marjoram (*Origanum majorana* L.) Essential Oil with Potential as Anti-Inflammatory and Anti-Hyperuricemia 282-300

Ungsari Rizki Eka Purwanto, Mighfar Syukur, Tris Harni Pebriani, Anissa Nursofiatun

Identifikasi Senyawa Aktif Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) sebagai Inhibitor Tirosinase 301-312

Willy Tirza Eden, Clarissa Salshabila, Senda Kartika Rakainsa, Sri Mursiti

Formulasi, Uji Stabilitas Fisik, dan Efektifitas Sirup Antelmintik Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Cacing (*Ascaris suum*, Goeze) 313-324

Tuti Handayani Zainal, Rahmad Aksa, Yuri Pratiwi Utami, Heldawati Heldawati

Review Articles

Review: Cost-Effectiveness Analysis Metformin dan Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor Dibandingkan dengan Metformin dan Sulfonilurea pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 325-337

Nuring Novita Kusumawati, Tri Murti Andayani

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

apt. Vinci Mizranita, S.Farm., M.Pharm., Ph.D., Program Studi Farmasi, Universitas Sebelas Maret, Indonesia

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

Dr. Ratih Puspita Febrinasari, dr., M.Sc., Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Indonesia

Dewan Editor

- Dr. Mohd Zuwairi Saiman, Faculty of Science, Universiti Malaya, Malaysia
- apt. Ari Satia Nugraha SF., GDipSc., MSc-res., Ph.D., School of Chemistry and Molecular Bioscience University of Wollongong, Australia
- Denise Utami Putri, M.D., M.S., Ph.D., Department of Internal Medicine, Taipei Medical University, Taiwan, Province of China
- Dr. Kashif Ali, Shaheed Zulfikar Ali Bhutto Institute of Science and Technology (SZABIST), Pakistan
- Prof. Dr. apt. Gemini Alam, M.Si., Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Indonesia
- Prof. Dr. apt. Tri Murti Andayani, Sp.FRS., Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Indonesia
- Prof. Dr. apt. Iyan Sopyan, M.Si., Program Studi Farmasi, Universitas Padjadjaran, Indonesia
- Dr. apt. Saeful Amin, M.Sc., Program Studi Farmasi, Universitas Bakti Tunas Husada, Indonesia
- Dr. apt. Teuku Nanda Saifullah Sulaiman, S.Si., M.Si., Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada
- Prof. Dr. apt. Dyah Aryani Perwitasari, M.Si., Ph.D., Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan
- Prof. Dr. apt. Ahmad Ainurofiq, M.Si., Program Studi Farmasi, Universitas Sebelas Maret, Indonesia
- Dr. apt. Nina Salamah, M.Sc., Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan
- Dr. apt. Yosef Wijoyo, M.Si., Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma
- Dr. apt. Nestri Handayani, S.Si., M.Si., Program Studi Farmasi, Universitas Sebelas Maret, Indonesia
- Dr. Soerya Dewi Marliyana, S.Si., M.Si., Program Studi Kimia, Universitas Sebelas Maret, Indonesia

KATA PENGANTAR

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

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

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

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

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Surakarta, 13 September 2024

Editor JPSCR

DAFTAR ISI

Kualitas Hidup Pasien Kanker Payudara Menggunakan Kuesioner QLQ BR-23 di Rumah Sakit Kanker Dharmais Jakarta Barat	186-199
Numlil Khaira Rusdi, Iskandar Iskandar, Maifitrianti Maifitrianti, Nurhasnah Nurhasnah, Endang Sulistyaningsih, Lia Desviana Safitri	
Pemanfaatan Media Sosial Dalam Meningkatkan Pengetahuan dan Kepatuhan Pasien Diabetes Melitus	200-208
Siwi Padmasari, Sugiyono Sugiyono	
Tamanu Oil (<i>Calophyllum inophyllum</i> L.) Promotes Wound-Healing Activity in Alloxan-Induced Diabetic Rats, and Its Fatty Acids Profile	209-216
Rita Rakhmawati, Saptono Hadi, Ahmad Ainurofiq, Estu Retnaningtyas Nugraheni, Syaiful Choiri, Tiara Dewi Salindri Pratama	
Antibiofilm Activities of Bioactive Compounds of Local Edible Flowers in Indonesia: A Review	217-231
Anwar Rovik, Laelatul Afifah, Nur Rokhmalia, Vania Uly Andyra, Richad Richad	
Therapeutic Potential of Bovine Lactoferrin to Reduce Brain Malondialdehyde Levels in Hyperlipidemia-Induced Sprague-Dawley Rats	232-241
Havian Daulung Telium, Tena Djuartina, Dion Notario, Linawati Hananta	
The Relationship of <i>In Vitro</i> Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity with Total Phenolic and Flavonoids Content of <i>Tithonia diversifolia</i> Leaves Ethanolic Extract and Fractions	242-255
Endah Puspitasari, Nuri Nuri, Siti Muslichah, Bawon Triatmoko, Dewi Dianasari	
Autentikasi Minyak Biji Jagung <i>Zea mays</i> L.: Pengaruh Metode Ekstraksi dan Analisis Komposisi Menggunakan Metode Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)	256-267
Justitia Cahyani Fadli, Any Guntarti, Nina Salamah	
Formulasi dan Uji Antibakteri Formula Optimum Gel Kitosan Kulit Udang <i>Vannamei</i> (<i>Litopenaeus vannamei</i>) sebagai Antiakne	268-281
Naniek Widyaningrum, Fita Nadia Septiana, Rina Wijayanti, Thendi Abdul Arief	
Nanoemulgel Formulation of Marjoram (<i>Origanum majorana</i> L.) Essential Oil with Potential as Anti-Inflammatory and Anti-Hyperuricemia	282-300
Ungsari Rizki Eka Purwanto, Mighfar Syukur, Tris Harni Pebriani, Anissa Nursofiatun	
Identifikasi Senyawa Aktif Eceng Gondok (<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms) sebagai Inhibitor Tirosinase	301-312
Willy Tirza Eden, Clarissa Salshabila, Senda Kartika Rakainsa, Sri Mursiti	

Formulasi, Uji Stabilitas Fisik, dan Efektifitas Sirup Antelmintik Ekstrak Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> L.) Terhadap Cacing (<i>Ascaris suum</i>, Goeze)	313-324
Tuti Handayani Zainal, Rahmad Aksa, Yuri Pratiwi Utami, Heldawati Heldawati	
Review: <i>Cost-Effectiveness Analysis</i> Metformin dan Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor Dibandingkan dengan Metformin dan Sulfonilurea pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2	325-337
Nuring Novita Kusumawati, Tri Murti Andayani	

Kualitas Hidup Pasien Kanker Payudara Menggunakan Kuesioner QLQ BR-23 di Rumah Sakit Kanker Dharmais Jakarta Barat

Quality of Life in Breast Cancer Patients Using the QLQ BR-23 Questionnaire at Dharmais Cancer Hospital, West Jakarta

Numlil Khaira Rusdi^{1*}, Iskandar², Maifitrianti³, Nurhasnah³, Endang Sulistyaningsih³ dan Lia Desviana Safitri³

¹Program Magister Ilmu Farmasi, Sekolah Pascasarjana Universitas Muhammadiyah Prof Dr. Hamka, Jakarta Selatan, Indonesia

²RS Kanker Dharmais, Jakarta Barat, Indonesia

³Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof Dr. Hamka, Jakarta Timur, Indonesia

*Corresponding author: numlilkhaira@uhamka.ac.id

Diterima: 08 Februari 2024; **Disetujui:** 01 Juli 2024; **Dipublikasi:** 13 September 2024

Abstrak

Masalah utama pasien kanker payudara dalam jangka panjang berkaitan dengan masalah psikososial dan gejala fisik khususnya efek samping dari terapi adjuvant sistemik/ kemoterapi pada kualitas hidup. Penelitian ini bertujuan untuk menilai kualitas hidup pasien kanker payudara di instalasi rawat jalan Rumah Sakit Kanker Dharmais Jakarta Barat dan mengevaluasi faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas hidup pasien. Desain penelitian menggunakan studi kohort. Kualitas hidup pasien kanker payudara dinilai menggunakan kuesioner EORTC QLQ-BR23 dengan kategori baik, sedang, dan buruk. Faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas hidup dianalisis menggunakan regresi linear. Hasil penelitian menunjukkan, kualitas hidup berdasarkan skala fungsional; untuk domain citra tubuh terkategori baik, fungsi seksual terkategori buruk, kenikmatan seksual dan pandangan masa depan terkategori sedang. Kualitas hidup berdasarkan skala gejala; pada domain efek terapi, gejala pada payudara, gejala pada lengan, dan gejala pada rambut termasuk kategori baik. Faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas hidup adalah usia 50 tahun keatas, *postmenopause*, mastektomi, dan stadium lanjut ($p < 0,05$). Pasien kanker payudara di Rumah Sakit Kanker Dharmais Jakarta Barat memiliki kualitas hidup sedang pada skala fungsional dan kualitas hidup baik pada skala gejala.

Kata kunci: EORTC QLQ-BR23; Kanker payudara; Kualitas hidup

Abstract

The main problems of breast cancer patients in the long term are related to psychosocial problems and physical symptoms, especially the adverse effects of adjuvant systemic therapy/chemotherapy on quality of life. This study aimed to assess the quality of life of breast cancer patients in the outpatient installation of the Dharmais Cancer Hospital, West Jakarta. It evaluated the factors that influence the patient's quality of life. The research design used a cohort study. The quality of life of breast cancer patients was assessed using the EORTC QLQ-BR23 questionnaire, which included good, fair, and poor categories. Factors that influence

quality of life were analyzed using linear regression. The research results showed, based on the functional scale, the body image domain was categorized as good, sexual function was categorized as poor, and sexual enjoyment and future outlook were categorized as fair. Based on the symptom scale, The therapeutic effect domain, breast, arm, and hair symptoms were categorized as good. Factors influencing quality of life are 50 years old and older, postmenopausal, mastectomy, and advanced stage ($p < 0.05$). The quality of life of breast cancer patients at the Dharmais Cancer Hospital, West Jakarta, is adequate on the functional scale and good on the symptom scale.

Keywords: Breast cancer; EORTC QLQ-BR23; Quality of life

1. PENDAHULUAN

Kanker payudara masih menjadi problem kesehatan masyarakat utama di seluruh dunia. Menurut data *GLOBOCAN* oleh *International Agency for Research on Cancer (IARC)* tahun 2020, kanker payudara merupakan jenis kanker dengan jumlah kasus baru terbanyak di dunia sebesar 201.58 per 100.000 penduduk dengan persentase 11,7 %, diikuti kanker paru-paru dan kanker prostat terhitung 11,4%, dan 7,3% (Globocan, 2020).

Permasalahan kanker payudara di Indonesia melonjak lebih besar disebabkan lebih dari 60% penderita kanker payudara berobat ke dokter pada saat stadium penyakit sudah lanjut, sehingga upaya kuratif tidak lagi dapat diharapkan (Kementerian Kesehatan RI, 2015). Pasien kanker payudara sering mengalami pengobatan kemoterapi atau radioterapi jangka panjang, akumulasi tekanan psikologis, nyeri kronis, dan kelelahan, yang menyebabkan penurunan kualitas hidup (Gayatri *et al.*, 2021).

Kemoterapi, sebagai pengobatan kanker payudara, sangat efektif dalam mengurangi ukuran tumor dan membunuh sel kanker, namun pasien masih merasakan efek samping dari pengobatan (Wang *et al.*, 2013). Hal ini akan mempengaruhi perubahan fisik dan psikologis pasien seperti depresi dan kecemasan, aktivitas sosial, kesehatan seksual, dan gejala psikososial, psikiatri dan fisik (Afifah dan Sarwoko, 2020). Efek samping pengobatan kanker payudara secara langsung dapat mempengaruhi pasien dan menurunkan kualitas hidup. Efek samping mual, muntah, dan nyeri selama kemoterapi telah dilaporkan secara signifikan mengganggu aktivitas pasien (Tunas *et al.*, 2016). Akibatnya, pengobatan kanker payudara sering dikaitkan dengan tekanan psikologis dan penurunan kualitas hidup terkait kesehatan (Suwendar *et al.*, 2017).

Kemoterapi harus dipilih dengan mempertimbangkan kebutuhan akan respon yang cepat dan signifikan serta pertimbangan kualitas hidup (Cardoso *et al.*, 2009). Berbeda dengan toksisitas yang terdokumentasi dengan baik yang sering ditemukan dalam uji klinis, pengukuran kualitas hidup jarang diukur, dan data kualitas hidup yang dilaporkan seringkali tidak dianalisis.

Hasil penelitian Marinka *et al* (2020) pada pasien kanker kanker kolon, lidah, kulit, nasofaring, ovarium, payudara, rektum, dan serviks menunjukkan bahwa kualitas hidup pasien pada skala fungsional termasuk kategori baik dengan skor rata-rata tertinggi adalah pada fungsi emosi ($78,2 \pm 22$), sedangkan kualitas hidup pasien pada skala gejala termasuk kategori buruk

dengan skor rata-rata tertinggi adalah kelelahan ($48,6 \pm 22,9$). Penelitian tersebut menggunakan kuesioner *European Organization for Research and Treatment of Cancer* (EORTC) QLQ C-30 untuk menilai kualitas hidup (Maringka *et al.*, 2020).

EORTC QLQ-30 merupakan kuesioner yang umum digunakan untuk menilai kualitas hidup pasien kanker, sedangkan EORTC QLQ-BR23 merupakan kuesioner yang spesifik digunakan untuk kanker payudara (Fayers *et al.*, 2001; Nageeti *et al.*, 2019). Kuesioner EORTC QLQ-BR23 berisi 23 pertanyaan yang menilai empat aspek fungsional (citra tubuh, fungsi seksual, kenikmatan seksual, dan pandangan masa depan), serta empat skala gejala yaitu efek samping terapi sistemik, gejala pada payudara, gejala pada lengan, dan gejala pada rambut (Kim *et al.*, 2012). Kuesioner ini telah diterjemahkan ke dalam bahasa Indonesia dan divalidasi untuk penduduk Indonesia ($r > 3$). EORTC QLQ-BR23 merupakan alat ukur yang valid dan reliabel untuk menilai kualitas hidup pasien kanker payudara di Indonesia (Adli *et al.*, 2021).

Masalah utama kualitas hidup pasien kanker payudara dalam jangka panjang berkaitan dengan masalah psikososial dan gejala fisik pada lengan dan payudara, serta efek samping dari terapi adjuvan sistemik/ kemoterapi (Dehkordi *et al.*, 2009). Indikator kualitas hidup dapat mempengaruhi keputusan pengobatan, memantau hasil pengobatan, membantu dokter memilih rejimen obat yang efektif, dan menentukan kepatuhan pasien terhadap pengobatan. Melalui metode pengukuran kualitas hidup juga dapat diketahui faktor apa saja yang berpengaruh terhadap kualitas hidup pasien (Suwendar *et al.*, 2017).

Penilaian QOL pada pasien kanker payudara perlu dilakukan karena dapat mempengaruhi keputusan terapi serta kepatuhan pasien selama menerima pengobatan. Tujuan penelitian ini adalah menilai kualitas hidup pasien kanker payudara menggunakan kuesioner QLQ-BR23 dan menilai faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas hidup pasien kanker payudara di Rumah Sakit (RS) Kanker Dharmas Jakarta Barat, yang merupakan RS rujukan nasional pada pasien kanker.

2. WAKTU DAN METODE

Penelitian dilakukan di RS Kanker Dharmas Jakarta Barat pada bulan April sampai Juli 2023. Desain penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini adalah rancangan studi *cross sectional* dengan pengambilan sampel menggunakan *purposive sampling*. Kuesioner untuk menilai kualitas hidup yaitu EORTC QLQ-BR23 yang terdiri atas 23 pertanyaan, yang terdiri dari pertanyaan skala fungsional (citra diri, fungsi seksual, kenikmatan seksual dan pandangan masa depan) serta pertanyaan skala gejala (efek terapi, gejala pada payudara, gejala pada lengan dan kerontokan rambut (EORTC *Quality of Life Group*, 2001).

Cara menghitung skor kualitas hidup yaitu, dengan menghitung *raw score* (RS) dan transformasi linear (Fayers *et al.*, 2013). Rumus *raw score*: $RS = (P1 + P2 + P3 + \dots + Pn)/n$, di mana P adalah nilai untuk setiap item pertanyaan untuk skala tertentu dan n adalah jumlah item pertanyaan. Selanjutnya dihitung transformasi linear untuk masing-masing skala. Semua pertanyaan memiliki skor antara 0 – 100. Rumus transformasi linear untuk skala fungsional dan gejala yaitu $S = \{1 - (RS - 1/3)\} \times 100$ (Fayers *et al.*, 2013). Kualitas hidup dikategorikan

berdasarkan penelitian sebelumnya yaitu skor ≤ 33 untuk skala fungsional dianggap kualitas hidupnya buruk, skor 34-65 dianggap sedang, dan skor ≥ 66 dianggap dalam kondisi baik. Sebaliknya untuk skala gejala, skor ≤ 33 dinilai memiliki kualitas hidup baik, skor 34-65 dengan kualitas hidup sedang, dan ≥ 66 dianggap buruk (Imran *et al.*, 2019).

Faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas hidup pasien dianalisis menggunakan regresi linear. Analisis regresi linier dilakukan untuk mengukur signifikansi prediktor dan menghitung koefisien determinasi. Variabel terikatnya adalah kualitas hidup, sedangkan usia, status menopause, stadium kanker, dan jenis tindakan merupakan variabel independen, dan diberi label “Ya” dan “Tidak” kelompok dan dianggap sebagai prediktor model. Nilai R kuadrat dihitung, dan $p < 0,05$ dianggap signifikan. Kriteria inklusi penelitian ini adalah pasien di instalasi rawat jalan RS Kanker Dharmais Jakarta Barat yang menderita Kanker Payudara sedang menjalani terapi, usia diatas 18 tahun, bersedia menjadi responden dengan mengisi *informed consent*, dan memiliki data rekam medis lengkap. Kriteria eksklusi penelitian ini adalah pasien tidak mampu berkomunikasi dengan baik, pasien dengan penyakit lainnya (penyakit penyerta), dan pasien belum pernah menikah. Penelitian ini telah disetujui oleh komite etik RS Kanker Dharmais dengan nomor etik penelitian: 070/KEPK/II/2023.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Karakteristik pasien kanker payudara

Jumlah responden yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 202 pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi pada bulan April – Juli 2023. Karakteristik pasien kanker payudara dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa mayoritas usia pasien kanker payudara di RS Kanker Dharmais Jakarta yaitu 50 tahun keatas (Tabel 1). Hal ini didukung oleh data dari WHO yang menunjukkan bahwa 78% kanker payudara terjadi pada wanita usia 50 tahun keatas sedangkan 6% diantaranya kurang dari 40 tahun (*World Health Organization*, 2019). Usia merupakan salah satu faktor resiko yang dapat meningkatkan terjadinya kanker payudara, dimana semakin bertambahnya usia seseorang, maka kemungkinannya untuk mengalami kanker payudara akan meningkat (Smeltzer dan Bare's, 2001).

Sebanyak 39% pasien telah menopause (*postmenopause*) (Tabel 1). Hasil ini sejalan dengan Imran (2019) yang menunjukkan bahwa sebanyak 40% responden telah menopause (Imran *et al.*, 2019). Hasil yang hampir sama juga ditunjukkan oleh penelitian Nageeti (2019), dimana 52,3% pasien kanker payudara telah menopause (Nageeti *et al.*, 2019). Menopause setelah usia 50 tahun ke atas dapat meningkatkan resiko mengalami kanker payudara (Smeltzer dan Bare's, 2001). Sebagian besar kanker payudara yang didiagnosis adalah setelah menopause (>50 tahun) (Iqmy *et al.* 2021).

Jenis pengobatan yang paling banyak dijalani pasien dalam penelitian ini adalah terapi hormonal (30%) dan kombinasi terapi hormonal dengan kemoterapi (28%) (Tabel 1). Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian Ganesh *et al* (2016), yang melaporkan bahwa kemoterapi merupakan jenis pengobatan yang paling banyak dijalani pasien sebesar 38,1%.

Pemilihan terapi pada pasien kanker payudara dipengaruhi oleh beberapa faktor, oleh jenis kanker dan stadium kanker (Kementerian Kesehatan RI, 2018).

Tabel 1. Distribusi karakteristik pasien kanker payudara di RS Kanker Dharmais.

Variabel	N (%)
Usia	
< 50 tahun	98 (49)
≥ 50 tahun	103 (51)
Stadium Kanker	
Stage A = 0, I, II	103 (51)
Stage B = III, IV	96 (48)
Tanpa Stadium	2 (1)
Jenis Tindakan Operasi	
<i>Breast Cancer Therapy</i> (BCT)	30 (15)
Mastektomi	144 (72)
Tanpa Tindakan	27 (13)
Jenis kanker	
<i>Ductal Carcinoma In Situ</i> (DCIS)	14 (7)
<i>Ductal Carcinoma Invasive</i> (DCIV)	172 (86)
<i>Lobular Carcinoma Invasive</i> LCIV	14 (7)
Status Menopause	
<i>Premenopause</i>	64 (32)
<i>Perimenopause</i>	58 (29)
<i>Postmenopause</i>	79 (39)
Tatalaksana Pengobatan	
Hormonal	60 (30)
Kemoterapi	46 (23)
Radiasi	2 (1)
Hormonal dan Kemoterapi	57 (28)
Hormonal dan Radiasi	10 (5)
Kemoterapi dan Tertarget	4 (2)
Kemoterapi dan Radiasi	2 (1)
Hormonal Kemoterapi dan Radiasi	8 (4)
Tanpa Obat	11 (5)

Sebanyak 51% pasien menderita kanker payudara *stage* A (stadium 0, I, II). Penelitian Ganesh *et al* (2016) menunjukkan bahwa 52,1% pasien mengalami kanker stadium III dan stadium IV. Hasil penelitian Afifah dan Sarwoko (2020) menunjukkan bahwa mayoritas stadium kanker payudara yang diderita responden adalah stadium III (75%) (Afifah dan Sarwoko, 2020). Permasalahan kanker payudara di Indonesia melonjak lebih besar disebabkan lebih dari 60% penderita kanker payudara berobat ke dokter pada saat stadium penyakit sudah lanjut, sehingga upaya kuratif tidak lagi dapat diharapkan (Kementerian Kesehatan RI, 2015).

Sebagian besar pasien menjalani tindakan mastektomi, jumlahnya sebanyak 144 pasien (72%) (Tabel 1). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Ganesh *et al* (2016) yang menunjukkan bahwa mayoritas pasien mendapatkan tindakan mastektomi (80,7%). Pembedahan adalah terapi

yang paling awal dikenal untuk pengobatan kanker payudara. Pembedahan pada kanker payudara bervariasi menurut luasnya jaringan yang diambil dengan tetapi berpatokan pada kaidah onkologi. Terapi pembedahan yang umumnya dikenal adalah terapi masalah lokal dan regional (berupa mastektomi, *breast conserving surgery*, diseksi aksila, dan terapi terhadap rekurensi lokal/regional). Pembedahan diindikasikan pada kanker payudara stadium I, II, dan IIIA (Kementerian Kesehatan RI, 2018).

Sebagian besar pasien mengidap kanker jenis *ductal carcinoma invasive* (DCIV) (86%). Sejalan pada penelitian Hanafi (2010) yang menyatakan bahwa jenis histopatologi sebagian besar *karsinoma duktal invasif* 39 (97,5%) dan hanya satu (2,5%) yang *invasive karsinoma lobular* (Hanafi *et al.*, 2010). Menurut *American Cancer Society*, DCIV menyumbang sekitar 80% dari kasus kanker payudara invasif (*American Cancer Society*, 2022). Sebagian besar pasien mengidap kanker dengan jenis DCIV, dimana kanker tersebut telah bermetastasis ke jaringan lain sehingga dapat mempengaruhi kualitas hidup pasien kanker payudara.

3.2. Penilaian kualitas hidup pasien kanker payudara QLQ-BR23

Kualitas hidup seseorang pada umumnya dilihat dari beberapa aspek antara lain keadaan kesehatan secara umum, kemampuan fungsional, dan gejala yang dirasakan (Mursyid, 2019). Setiap jenis pengobatan terhadap penyakit dapat menimbulkan masalah fisiologis, psikologis, dan sosial pada pasien. Perubahan citra tubuh akibat perubahan fisik yang menyertai pengobatan telah ditemukan menjadi respon psikologis yang amat menekan bagi pengidap kanker payudara. Kondisi ini telah membuat para wanita mengalami kecemasan terhadap proses pengobatan sehingga cenderung mempengaruhi konsep diri wanita tersebut pada akhirnya dapat mempengaruhi kualitas hidup (Canário *et al.*, 2016).

Kualitas hidup pasien kanker payudara dikategorikan menjadi 2 skala yaitu skala fungsional dan skala gejala. Skala fungsional terdiri dari citra tubuh, fungsi seksual, kenikmatan seksual, dan pandangan masa depan. Skala gejala terdiri dari 4 domain yaitu efek terapi, gejala pada payudara, gejala pada lengan, dan gejala pada rambut (EORTC *Quality of Life Group*, 2001).

Skor skala fungsional >66 , dinilai pasien mempunyai kualitas hidup baik, skor 34-65 kualitas hidup sedang, dan ≤ 33 pasien dengan kualitas hidup buruk. Nilai tertinggi skala fungsional terdapat pada domain citra tubuh dengan rata-rata 75,47 yang artinya kualitas hidup pasien dikategorikan baik. Citra tubuh diartikan sebagai suatu keadaan di mana seseorang menilai penampilan dan keadaan tubuhnya sendiri. Penelitian yang dilakukan Imran tahun 2019 menunjukkan skor yang lebih tinggi dan kualitas hidup yang baik untuk citra tubuh dengan rata-rata 79,16 (Imran *et al.*, 2019). Penelitian serupa juga dilakukan oleh Ganesh tahun 2016 didapatkan domain citra tubuh rata-rata skor 80 yang menunjukkan kualitas hidup pasien kanker payudara baik (Ganesh *et al.*, 2016).

Domain kenikmatan seksual serta pandangan masa depan menunjukkan kualitas hidup sedang, namun untuk fungsi seksual menunjukkan kualitas hidup yang buruk, dengan skor terendah yaitu 32,25. Hal ini disebabkan karena sebagian besar pasien berusia diatas 50 tahun

dengan karakteristik perimenopause dan *postmenopause* sehingga fungsi seksualnya telah menurun. Penelitian sebelumnya juga menunjukkan sebagian besar pasien kanker payudara mempunyai skor fungsi seksual yang rendah sehingga kualitas hidupnya dinilai buruk (Imran *et al.*, 2019). Penelitian oleh Ganesh tahun 2016 juga menunjukkan rata-rata skor yang rendah pada skala fungsi seksual yaitu sebesar 14,3 dengan kualitas hidup yang lebih buruk (Ganesh *et al.*, 2016).

Tabel 2. Penilaian kualitas hidup pasien kanker payudara berdasarkan QLQ-BR23 di RS Kanker Dharmais. Keterangan: Skala fungsional *score* ≤ 33 kualitas hidup buruk, *score* 34-65 kualitas hidup sedang dan *score* > 66 kualitas hidup baik, sedangkan pada skala gejala nilai *score* ≤ 33 kualitas hidup baik, *score* 34-65 kualitas hidup sedang dan *score* > 66 kualitas hidup buruk.

Skala	N	Jumlah perskala	Rata-rata	N(%) Skor ≤33	N(%) Skor >66
Skala Fungsional					
Citra Tubuh	201	4	75,47 (Baik)	29(14)	150(75)
Fungsi Seksual	201	2	32,25 (Buruk)	135(67)	56(28)
Kenikmatan Seksual	201	2	34,28 (Sedang)	126(63)	75(37)
Pandangan Masa Depan	201	1	49,32 (Sedang)	89(44)	112(56)
Rata-rata Skor			47,83 (Sedang)		
Skala Gejala					
Efek Terapi	201	7	24,22 (Baik)	155(77)	18(9)
Gejala pada Payudara	201	4	28,96 (Baik)	148(74)	31(15)
Gejala pada Lengan	201	3	23,20 (Baik)	163(81)	21(10)
Gejala pada Rambut	201	1	19,42 (Baik)	170(85)	31(15)
Rata-rata Skor			23.95 (Baik)		

Domain pandangan masa depan didapatkan hasil dengan rata-rata 49,32 yang artinya kualitas hidup pasien pada penelitian ini sedang. Penelitian serupa yang dilakukan Ganesh tahun 2016 pada domain pandangan masa depan didapatkan rata-rata 59,8 yang artinya kualitas hidup pasien kanker payudara pada domain pandangan masa depan sedang (Ganesh *et al.*, 2016). Namun berbeda dengan penelitian Imran tahun 2019 pada domain pandangan masa depan didapatkan rata-rata 67,84 yang berarti kualitas hidup pada domain ini baik (Imran *et al.*, 2019). Hasil skor rata-rata skala fungsional yang dilihat dari domain citra tubuh, fungsi seksual, kenikmatan seksual, dan pandangan masa depan, pada penelitian ini menunjukkan kualitas hidup yang sedang.

Selanjutnya, kategori skala gejala merupakan penilaian kualitas hidup pasien kanker payudara pada aspek efek terapi, gejala pada payudara, gejala pada lengan, dan gejala pada rambut. Pada skala gejala semakin tinggi skor yang didapatkan (> 66) kualitas hidup semakin

buruk sebaliknya semakin rendah skor yang didapatkan (≤ 33) kualitas hidup semakin baik, dan skor 34-65 kualitas hidup sedang. Skor rata-rata skala gejala pada pasien kanker payudara adalah 23,95 yang berarti kualitas hidup pasien baik.

Pasien mengalami efek rambut rontok, gejala pada payudara, dan gejala pada lengan, merupakan efek samping terapi kanker payudara dan efek tindakan mastektomi, namun pada penelitian ini kualitas hidup pasien dilihat dari kategori skala masih tergolong baik. Penelitian ini sejalan penelitian Ganesh tahun 2016 pada skala gejala pasien kanker payudara memiliki kualitas hidup baik dengan rata-rata 21,95 (Ganesh *et al.*, 2016). Hal ini bertolak belakang dengan penelitian Nageeti tahun 2019 pada skala gejala didapatkan rata-rata pasien memiliki kualitas hidup sedang pada skala gejala (Nageeti *et al.*, 2019).

3.3. Faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas hidup pasien kanker payudara

Hasil kualitas hidup skala fungsional pada penelitian ini menunjukkan bahwa kualitas hidup pasien baik pada aspek citra tubuh, kualitas hidup sedang pada aspek pandangan masa depan dan kenikmatan seksual, serta kualitas hidup buruk pada aspek fungsi seksual, dengan rata-rata kualitas hidup sedang untuk semua aspek. Hasil uji regresi linear menunjukkan faktor yang mempengaruhi skala fungsional ini adalah *postmenopause*, mastektomi, dan usia diatas 50 tahun.

Skala gejala dari aspek efek terapi, gejala pada payudara, gejala pada lengan, dan gejala pada rambut menunjukkan kualitas hidup yang baik. Hasil uji regresi linear menunjukkan faktor yang mempengaruhi skala gejala ini adalah usia diatas 50 tahun dan stadium lanjut.

Uji normalitas skor fungsional dan gejala didapatkan ada data yang tidak berdistribusi normal sehingga dilakukan uji korelasi Spearman's rho. Faktor *postmenopause*, mastektomi, dan usia diatas 50 tahun memenuhi kriteria untuk masuk ke dalam analisis multivariat ($p < 0,25$). Dilihat dari citra tubuh, kualitas hidup semakin baik yaitu pada pasien *post menopause* dan tanpa mastektomi (*Adjusted R*² = 0,066). Selanjutnya, kualitas hidup buruk dilihat dari fungsi seksual yaitu pada pasien 50 tahun keatas (*Adjusted R*² = 0,146). Kenikmatan seksual mempunyai korelasi negatif dengan usia diatas 50 tahun. Semakin bertambah usia maka kenikmatan seksual semakin berkurang.

Hasil analisis pada penelitian ini, didapatkan bahwa citra tubuh lebih buruk pada pasien yang lebih muda (*premenopause*) dan dengan mastektomi. Hasil penelitian tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ganesh *et al* (2016) bahwa wanita *premenopause* memiliki kualitas hidup yang lebih buruk dibandingkan dengan wanita *menopause* atau *post menopause*. Hal tersebut disebabkan karena dalam kondisi *premenopause* sistem reproduksi masih bekerja dengan sangat baik, rangkaian pengobatan yang dijalani pasien *premenopause* dengan kanker payudara menyebabkan mereka menjadi tidak subur, itulah yang menyebabkan penurunan kualitas hidup pasien kanker payudara pada wanita *premenopause* (Ganesh *et al.*, 2016). Selain itu, mastektomi dapat menyebabkan penurunan kualitas hidup pada pasien yang lebih muda karena pasien merasa tidak menyenangkan baginya untuk memandang tubuhnya (Fakir *et al.*, 2016).

Tabel 3. Faktor-Faktor yang mempengaruhi kualitas hidup pasien kanker payudara di RS Kanker Dharmais.

Variabel		Koefisien Standar Beta	<i>p-value</i>	<i>Adjusted R²</i>
Faktor risiko Fungsional				
Citra Tubuh	Konstanta		0,000	0,066
	<i>Postmenopause</i>	0,244	0,001	
	Mastektomi	-0,187	0,008	
Fungsi Seksual	Konstanta		0.000	0,146
	Usia diatas-50	0.387	0.000	
Kenikmatan Seksual	Konstanta		0.000	0,083
	Usia diatas-50	-0.296	0.000	
Pandangan Masa Depan	Konstanta		0.000	0,023
	<i>Postmenopause</i>	0.166	0.019	
Faktor risiko Gejala				
Efek Terapi	Konstanta		0.000	0,020
	Stadium Lanjut	-0.158	0.025	
Gejala pada Payudara	Konstanta		0.000	0,062
	Stadium Lanjut	-0.258	0.000	
Gejala Pada Lengan	Konstanta		0.000	0,093
Gejala Pada Rambut	Konstanta		0.000	
	Usia diatas-50	-0.313	0.000	

Usia 50 tahun keatas dapat menerima kondisi fisiknya yang menurun karena sakit dibandingkan yang lebih muda (Anggraeni, 2021). Perempuan yang lebih muda cenderung memiliki harapan yang lebih tinggi terhadap kesehatan mereka, sehingga lebih sulit dalam mengatasi penyakitnya. Mereka sangat terpengaruh dengan standar penampilan tubuh dan perspektif masa depan terutama terkait ekonomi dan keluarga sehingga mempengaruhi emosi dan aktivitas sosial (Juwita *et al.*, 2019).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa mastektomi memiliki hubungan negatif terhadap kualitas hidup, yang artinya dengan adanya tindakan mastektomi maka kualitas hidup pasien kanker payudara semakin buruk pada domain citra tubuh. Sejalan pada penelitian Ganesh *et al* (2016) mengatakan pasien yang menjalani *Breast Cancer Therapy (BCT)* payudara memiliki skor kualitas hidup yang lebih baik dibandingkan dengan pasien yang menjalani mastektomi dalam skala fungsional dan gejala. Hasil serupa pada penelitian Acil dan Cavdar (2014) menemukan bahwa citra tubuh, fungsi seksual, kepuasan seksual, perspektif masa depan, dan gejala lengan dan payudara yang lebih baik pada pasien yang menerima operasi konservasi dari pada pasien yang menerima mastektomi.

Hasil korelasi regresi linear menunjukkan bahwa *postmenopause* berkorelasi positif dengan pandangan masa depan (*Adjusted R*² = 0,023), dengan koefisien korelasi 0,166 yang berarti kekuatan korelasi positif sangat lemah. Pasien yang sudah mengalami *postmenopause* memiliki kualitas hidup lebih baik pada domain pandangan masa depan. Hasil kualitas hidup yang lebih buruk diantara wanita yang lebih muda sangat terkait dengan perubahan fisiologis yang dialami selama transisi menopause (*premenopause*) serta realitas emosional yang berpotensi menjadi tidak subur. Penurunan kadar estrogen akibat kegagalan ovarium dikaitkan

dengan gejala seperti *hot flashes*, keringat malam, kekeringan vagina, dispareunia, dan perubahan berat badan. Kerusakan ovarium akibat pengobatan kemoterapi juga dapat berdampak negatif pada kadar hormon seks, termasuk androgen (Rosenberg dan Partridge, 2013).

Gejala menopause telah dilaporkan lebih parah pada wanita yang menjadi menopause akibat pengobatan dibandingkan dengan beban gejala pada wanita yang mengalami transisi menopause normal. Meskipun pengalaman ini mungkin “normal” untuk wanita berusia diatas 50, namun untuk wanita berusia dibawah 50 tahun perubahan ini bisa sangat menyusahkan dan berpotensi mempengaruhi kualitas hidup secara negatif (Rosenberg dan Partridge, 2013).

Usia 50 tahun keatas dapat menerima kondisi fisiknya yang menurun karena sakit dibandingkan yang lebih muda dikarenakan seseorang di usia muda (<50 tahun) lebih memperhatikan kondisi fisiknya. Semakin bertambahnya usia maka semakin meningkat kualitas hidupnya, dikarenakan semakin bertambahnya usia seseorang lebih matang terutama dari segi psikologis, termasuk kesiapan ketika menghadapi kondisi sakit (Anggraeni, 2021). Perempuan yang lebih muda cenderung memiliki harapan yang lebih tinggi terhadap kesehatan mereka, sehingga lebih sulit dalam mengatasi penyakitnya. Mereka sangat terpengaruh dengan standar penampilan tubuh dan perspektif masa depan terutama terkait ekonomi dan keluarga sehingga mempengaruhi emosi dan aktivitas sosial (Juwita *et al.*, 2019).

Hasil penelitian ini didapatkan kualitas hidup pasien baik pada skala gejala, yaitu pada domain efek terapi dan gejala pada payudara. Pada penelitian ini stadium lanjut memiliki hubungan negatif terhadap kualitas hidup yang artinya pasien dengan kanker stadium lanjut maka kualitas hidup pasien kanker payudara semakin buruk. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Afifah dan Sarwoko (2020) yang menunjukkan bahwa stadium kanker mempunyai hubungan yang signifikan dengan kualitas hidup wanita penderita kanker yaitu pasien dengan kanker stadium I, II, dan III memiliki kualitas hidup lebih tinggi dibandingkan pasien kanker stadium IV. Penderita kanker pada stadium lanjut akan mempunyai permasalahan fisik yang lebih berat dibandingkan dengan penderita kanker stadium awal karena sel kanker telah menyerang organ-organ lain didalam tubuh (metastasis). Pengobatan terhadap penderita stadium lanjut dapat menyebabkan efek samping termasuk mual dan kelelahan yang dapat mempengaruhi aspek psikologis pasien sehingga menyebabkan kualitas hidup menurun (Afifah dan Sarwoko, 2020).

Penelitian lain menunjukkan lebih dari 50% pasien kanker dengan stadium III dan IV. Kualitas hidup terbaik dilaporkan di antara responden dari kanker stadium I, sedangkan kualitas hidup terburuk dilaporkan di antara responden dari kanker stadium IV dalam skala fungsional dan gejala. Pasien dengan stadium lanjut biasanya tidak layak untuk menerima dosis kemoterapi atau radioterapi yang biasa sehingga menyebabkan respon pengobatan yang lebih buruk dan karenanya kualitas hidup buruk (Ganesh *et al.*, 2016).

Hasil analisis data menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan antara faktor stadium lanjut, *postmenopause*, mastektomi, usia 50 tahun keatas, dan kanker invasif dengan

variable gejala pada lengan. Untuk aspek gejala pada rambut, terdapat pengaruh antara faktor usia diatas 50 tahun dengan gejala pada rambut. Terdapat hubungan faktor usia diatas 50 tahun dengan gejala pada rambut sebesar 9,3% ($Adjusted R^2 = 0,093$) dengan koefisien korelasi -0,313 yang berarti gejala pada rambut akan semakin buruk pada usia 50 tahun keatas. Penelitian Rahmiwati (2022) menunjukkan bahwa semakin tua usia pasien penderita kanker payudara maka kualitas hidup cenderung lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok pasien dengan usia yang lebih muda. Hal ini berkaitan dengan keterbatasan fungsi fisik pasien yang dipicu oleh faktor penuaan serta penurunan kemampuan fisik karena penyakit yang diderita.

Penelitian lain menunjukkan bahwa beberapa faktor yang menentukan kualitas hidup pasien kanker payudara yaitu usia, lama menopause, gejala menopause, status pernikahan, tingkat pendidikan, penghasilan, dan pekerjaan (Trisetiyaningsih, 2016). Efek dari pengobatan khususnya kemoterapi banyak mengakibatkan keluhan bagi pasien kanker. Semua efek tersebut dapat berdampak negatif terhadap kualitas hidup dari pasien kanker payudara (Wiliyanarti, 2021). Untuk meningkatkan kualitas hidup, pasien harus memiliki pengetahuan tentang penyakit kanker dan pengobatannya, memiliki kepercayaan diri, dan memiliki dukungan keluarga (Rosa *et al.*, 2022). Kualitas hidup yang baik sangat diperlukan agar seseorang mampu mendapatkan status kesehatan yang baik dan mempertahankan fungsi dan kemampuan fisik seoptimal mungkin dan selama mungkin. Seseorang yang memiliki kualitas hidup yang tinggi maka ia akan memiliki keinginan kuat untuk sembuh dan dapat meningkatkan derajat kesehatannya. Sebaliknya, ketika kualitas hidup menurun maka keinginan untuk sembuh juga menurun (Rosa *et al.*, 2022).

Keterbatasan penelitian yaitu belum menilai kualitas hidup berdasarkan stadium penyakit pasien. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menilai kualitas hidup pasien kanker payudara berdasarkan stadium penyakitnya.

4. KESIMPULAN

Kualitas hidup pasien kanker payudara di RS Kanker Dharmais periode 2023 menunjukkan kualitas yang sedang dilihat dari aspek fungsional dan kualitas hidup baik pada aspek gejala. Faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas hidup pasien kanker payudara adalah 50 tahun keatas, *postmenopause*, mastektomi, dan stadium lanjut ($p < 0,05$).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Lemlitbang UHAMKA atas bantuan dana penelitian yang diberikan.

DEKLARASI KONFLIK KEPENTINGAN

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

DAFTAR PUSTAKA

Acil, H., dan Cavdar, I. (2014). Comparison of quality of life of Turkish breast cancer patients receiving breast conserving surgery or modified radical mastectomy. *Asian Pacific*

- Journal of Cancer Prevention*, 15(13), 5377–5381. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.13.5377>
- Adli, M., Shatri, H., Sutandyo, N., dan Suwanto, S. (2021). Uji Validitas dan Reliabilitas European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Questionnaire-Breast 23 pada Pasien Kanker Payudara dalam Terapi. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, 7(4), 229–234. <https://doi.org/10.7454/jpdi.v7i4.526>
- American cancer society. (2022). Ductal Carcinoma In Situ (DCIS). *Cancer.Org*, 1–47. Diakses pada 20 Maret 2023. <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/treatment/treatment-of-breast-cancer-by-stage/treatment-of-ductal-carcinoma-in-situ-dcis.html>.
- American Cancer Society. (2021). Understanding a Breast Cancer Diagnosis, Atlanta. *American Cancer Society*, 1–36. Diakses pada 20 Maret 2023. www.cancer.org/treatment/understanding-your-diagnosis/tests/understanding-your-pathology-report.html.
- Anggraeni, L. D. (2021). Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Kualitas Hidup Pasien Kanker. *Journal of Nursing Education and Practice*, 1(2), 59–65. <https://doi.org/10.53801/jnep.v1i2.63>
- Afifah, VA., dan Sarwoko. (2020). Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Kualitas Hidup Pasien Kanker Payudara Yang Menjalani Kemoterapi. *Jurnal Komunikasi Kesehatan*, 11(1), 29–37. <https://doi.org/10.56772/jkk.v1i1.165>
- Canário, A. C., Cabral, P. U., de Paiva, L. C., Florencio, G. L., Spyrides, M. H., & Gonçalves, A. K. (2016). Physical activity, fatigue and quality of life in breast cancer patients. *Revista da Associacao Medica Brasileira (1992)*, 62(1), 38–44. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.62.01.38>
- Cardoso, F., Bedard, P. L., Winer, E. P., Pagani, O., Senkus-Konefka, E., Fallowfield, L. J., Kyriakides, S., Costa, A., Cufer, T., and Albain, K. S. (2009). International guidelines for management of metastatic breast cancer: Combination vs sequential single-agent chemotherapy. *Journal of the National Cancer Institute*, 101(17), 1174–1181. <https://doi.org/10.1093/jnci/djp235>
- Dehkordi, A., Heydarnejad, M. S., and Fatehi, D. (2009). Quality of life in cancer patients undergoing chemotherapy. *Oman Medical Journal*, 24(3), 204–207. <https://doi.org/10.5001/omj.2009.40>
- EORTC Quality of Life Group. (2001). *EORTC QLQ - BR23* (3rd ed.). EORTC: Brussel. Diakses pada 22 Maret 2023. <https://qol.eortc.org/questionnaire/qlq-br23/>.
- Fakir, S. El, Rhazi, K. El, Zidouh, A., Bennani, M., Errihani, H., Mellass, N., Bekkali, R., and Nejari, C. (2016). *Health-Related Quality of Life among Breast Cancer Patients and Influencing Factors in Morocco*. 17(12), 5063–5069. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2016.17.12.5063>.
- Fayers, P and Machin, D. (2013). *Quality of Life The Assesment, Analysis and Interpretation of Patient-Reported Outcomes Second Edition*. John Wiley and Sons: New York
- Fayers, P.M., Aaronson, N.K., Bjordal, K., Groenvold, M., Curran, D., and Bottomley, A. (2001). *EORTC QLQ-C30 Scoring Manual The EORTC QLQ-C30 Introduction* (3rd ed., Vol. 30). European Organisation for Research and Treatment of Cancer: Brussel. Diakses 22 April 2023. <http://www.eortc.be/home/qol/%0A3>.
- Ganesh, S., Lye, M., and Lau, F. N. (2016). Quality of Life among Breast Cancer Patients In Malaysia. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 17(4), 1677–1684. <http://dx.doi.org/10.7314/APJCP.2016.17.4.1677>
- Gayatri, D., Efremov, L., Mikolajczyk, R., and Kantelhardt, E. J. (2021). Quality of life assessment and pain severity in breast cancer patients prior to palliative oncology treatment in indonesia: A cross-sectional study. *Patient Preference and Adherence*, 15(1),

- 2017–2026. <https://doi.org/10.2147/PPA.S320972>
- Globocan. (2020). International Agency for Research on Cancer. *WHO Chronicle*, 23(7), 323–326.
- Hanafi, Zakaria, Z., dan Aryandono, T. (2010). *Faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas hidup penderita kanker payudara pasca kemoterapi ajuvan di RSUP Dr Sardjito Yogyakarta*. UGM: Yogyakarta
- Imran, M., Al-Wassia, R., Alkhayyat, S. S., Baig, M., and Al-Saati, B. A. (2019). Assessment of quality of life (QoL) in breast cancer patients by using EORTC QLQ-C30 and BR-23 questionnaires: A tertiary care center survey in the western region of Saudi Arabia. *Plos One*, 14(7), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219093>
- Iqmy, L. O., Setiawati, dan Yanti, D. E. (2021). Faktor Risiko Yang Berhubungan Dengan Kanker Payudara. *Jurnal Kebidanan*, 1(7), 32–36. <https://doi.org/10.33024/jkm.v7i1.3581>
- Juwita, D. A., Almahdy, A., dan Afdila, R. (2019). Penilaian Kualitas Hidup Terkait Kesehatan Pasien Kanker Payudara di RSUP dr. M. Djamil Padang, Indonesia. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(1), 114. <https://doi.org/10.35814/jifi.v17i1.682>
- Kementerian Kesehatan RI. (2015). Panduan Nasional Penanganan Kanker payudara. In *Komite Penanggulangan Kanker Nasional: Jakarta*
- Kementerian Kesehatan RI. (2018). *Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Kanker Payudara*. Kemenkes: Jakarta
- Kim, S. H., Jo, M. W., Kim, H. J., and Ahn, J. H. (2012). Mapping EORTC QLQ-C30 onto EQ-5D for the assessment of cancer patients. *Health and Quality of Life Outcomes*, 10(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/1477-7525-10-151>
- Maringka, P. C., Wiyono, W. I., dan Antasionasti, I. (2020). Penilaian Kualitas Hidup Pada Pasien Kanker di Ruang Irina Delima RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *Jurnal Biomedik:JBM*, 12(2), 139. <https://doi.org/10.35790/jbm.12.2.2020.29286>
- Mursyid A, Haris RNH, Endarti D, Wiedyaningsih C, Kristina SA. (2019). Pengukuran Kualitas Hidup Pasien Kanker Payudara di Kota Denpasar Menggunakan Instrumen EQ-5D-5L. *JMPF*, 9(3), 203–212. <https://doi.org/10.22146/jmpf.47192>
- Nageeti, T. H., Elzahrany, H. R., Gabra, A. O., Obaid, A. A., and Jastania, R. A. (2019). Quality of life assessment of breast cancer patients in Saudi Arabia. *Journal of Family and Community Medicine*, 26(2), 98–102. https://doi.org/10.4103/jfcm.JFCM_4_18
- Rahmiwati, R., Yenni, Y., dan Adzkiya, M. (2022). Kualitas Hidup Pasien Kanker Payudara Berdasarkan Karakteristik Pasien Dan Dukungan Keluarga. *Human Care Journal*, 7(2), 281. <https://doi.org/10.32883/hcj.v7i2.1557>
- Rosa, Y., Siswandi, A., Anggraeni, S., Setiawati, O. R. (2022). Hubungan dukungan keluarga terhadap kualitas hidup pada penderita kanker payudara yang sedang menjalani kemoterapi di RS abdul moeloek bandar lampung. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 3(1), 280–290. <https://doi.org/10.31004/jkt.v3i1.4037>
- Rosenberg, S. M., and Partridge, A. H. (2013). Premature menopause in young breast cancer: Effects on quality of life and treatment interventions. *Journal of Thoracic Disease*, 5(1), 55–61. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2072-1439.2013.06.20>
- Smeltzer and Bare's. (2001). *Textbook of Medical-Surgical Nursing: Australian and New Zealand Edition* (2nd ed.). Lippincott Williams & Wilkins: New South Wales.
- Suwendar, S., Fudholi, A., Andayani, T. M., and Sastramihardja, H. S. (2017). Quality of Life Evaluation of Cervical Cancer Inpatients Before and After Chemotherapy by Using the EQ-5D Questionnaire. *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*, 6(1), 1–10. <https://doi.org/10.15416/ijcp.2017.6.1.1>
- Trisetiyaningsih, Y. (2016). Faktor Faktor yang Berhubungan dengan Kualitas Hidup

- Perempuan Klimakterik. *Media Ilmu Kesehatan*, 5(1), 30-39. <https://doi.org/10.30989/mik.v5i1.142>
- Tunas, I. K., Yowani, S. C., Indrayathi, P. A., Noviyani, R., and Budiana, I. N. G. (2016). The Assessment Quality of Life for Patients with Cervical Cancer Using Chemotherapy Paclitaxel-Carboplatin in Sanglah. *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*, 5(1), 35–46. <https://doi.org/10.15416/ijcp.2016.5.1.35>
- Wang, H., Zhu, L., Lu, W., Xu, H., Yu, Y., and Yang, Y. (2013). Clinicopathological risk factors for recurrence after neoadjuvant chemotherapy and radical hysterectomy in cervical cancer. *World Journal of Surgical Oncology*, 11(1), 1–5. <https://doi.org/10.1186/1477-7819-11-301>
- Wiliyanarti, F.P. (2021). *Kualitas Hidup Pasien Kanker Payudara “Pendekatan Health Belief Model*. UMSurabaya Publishing: Surabaya.
- World Health Organization (WHO). (2019). *Cancer Facts and Figures*. Diakses tanggal 25 Maret 2024. https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_2.

Pemanfaatan Media Sosial dalam Meningkatkan Pengetahuan dan Kepatuhan Pasien Diabetes Melitus

Utilization of Social Media in Increasing Knowledge and Compliance in Patients with Diabetes Mellitus

Siwi Padmasari* dan Sugiyono

Program Studi Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia

*Corresponding author: siwipadmasari29@gmail.com

Diterima: 30 Mei 2023; **Disetujui:** 01 Juli 2024; **Dipublikasi:** 13 September 2024

Abstrak

Teknologi digital menjadi sumber daya penting untuk penyampaian layanan kesehatan. *Mobile Health* yang efektif digunakan pada pelayanan kesehatan, tetapi belum banyak diteliti adalah edukasi melalui penggunaan media *WhatsApp* (WA). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas edukasi penggunaan obat menggunakan media sosial WA dalam meningkatkan pengetahuan dan kepatuhan pasien Diabetes Melitus Tipe 2. Desain yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan desain penelitian *quasi experimental, pretest-posttest design with control group* dan pengambilan sampel menggunakan cara *convenience sampling*. Kelompok perlakuan akan mendapatkan edukasi penggunaan obat antidiabetik oleh apoteker melalui pesan teks dan *leaflet* melalui aplikasi WA setiap minggu selama 1 bulan. Pengukuran tingkat pengetahuan menggunakan kuisioner *Diabetes Knowledge Questionnaire-24* (DKQ24) dan pengukuran kepatuhan menggunakan kuisioner *Medication Adherence Report Scale-5* (MARS-5). Data karakteristik pasien dianalisis secara deskriptif. Data tingkat pengetahuan dan kepatuhan sebelum dan sesudah intervensi dianalisis dengan menggunakan uji *Wilcoxon* dan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antara kedua kelompok. Karakteristik pasien DM tipe 2 di Puskesmas Mlati II mayoritas berusia >45 tahun, jenis kelamin perempuan, memiliki tingkat pendidikan SMA, dan memiliki penyakit penyerta hipertensi. Pemberian edukasi pesan teks dan *leaflet* melalui WA dapat meningkatkan pengetahuan responden pada kelompok intervensi secara signifikan dengan nilai $\Delta 4,71$ ($p=0,000$) dibandingkan dengan kelompok kontrol dengan nilai $\Delta 2,59$ ($p=0,073$). Tingkat kepatuhan pada kelompok intervensi mengalami peningkatan secara signifikan dengan nilai $\Delta 7,74$ ($p=0,000$) dibandingkan dengan kelompok kontrol dengan nilai $\Delta 6,65$ ($p=0,069$). Kesimpulan dari penelitian ini adalah terdapat hubungan yang signifikan antara edukasi yang dilakukan oleh apoteker melalui media WA terhadap tingkat pengetahuan dan kepatuhan pada pasien DM tipe 2 ($p<0,05$).

Kata kunci: Edukasi; Kepatuhan; Pengetahuan; *WhatsApp*

Abstract

Digital technology is becoming an essential resource for healthcare delivery. A mobile health service effectively used in health services but has not been widely researched is education using *WhatsApp* (WA) media. This study aimed to investigate the effectiveness of drug use education through *WhatsApp* social media in enhancing knowledge and compliance among patients with type 2 diabetes mellitus. The research design in this study used a *quasi-experimental research*

design, a pretest-posttest design with a control group, and convenience sampling. The treatment group received education on the use of antidiabetic drugs from pharmacists via text messages and leaflets via the WA application every week for one month. Measuring the level of knowledge and adherence had been done using the Diabetes Knowledge Questionnaire-24 (DKQ24) questionnaire and the Medication Adherence Report Scale-5 (MARS-5) questionnaire, respectively. Patient characteristics were analyzed descriptively. Data on levels of knowledge and compliance before and after the intervention were analyzed using the Wilcoxon and Mann-Whitney tests to determine the differences between the two groups. The results of this study showed that the characteristics of type 2 DM patients at the Mlati II Community Health Center were that the majority were in the age range >45 years, female, had a high school education level and had comorbid hypertension. Providing text-message education and leaflets via WA can significantly increase respondents' knowledge in the intervention group, with a value of $\Delta 4.71$ ($p = 0.000$) compared to the control group, with a value of $\Delta 2.59$ ($p = 0.073$). The level of compliance in the intervention group increased significantly, with a value of $\Delta 7.74$ ($p = 0.000$), compared to the control group, with a value of $\Delta 6.65$ ($p = 0.069$). This research concludes that there was a significant relationship between education provided by pharmacists via WA media and the level of knowledge and compliance of type 2 DM patients ($p < 0.05$).

Keywords: Education; Compliance; Knowledge; *WhatsApp*

1. PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) termasuk dalam penyakit pada kelompok penyakit tidak menular dengan prevalensi yang terus meningkat dan diprediksi dapat meningkat menjadi 643 juta pasien pada tahun 2030. Mayoritas penderita diabetes melitus memiliki klasifikasi Diabetes Melitus Tipe 2. Penyakit diabetes melitus memiliki implikasi negatif terhadap ekonomi, disabilitas, dan berkurangnya produktivitas penderita diabetes melitus (Boulos *et al.*, 2016). Salah satu permasalahan dalam pencapaian luaran terapi yang baik adalah kurangnya informasi dan edukasi mengenai penggunaan obat antidiabetik yang tepat pada penyakit diabetes melitus. Beberapa penelitian menunjukkan adanya hubungan signifikan antara luaran terapi dengan tingkat pengetahuan dan kepatuhan pasien. Tingginya kadar HbA1c berhubungan dengan rendahnya tingkat pengetahuan pasien DM. Salah satu faktor yang dapat meningkatkan kualitas hidup dan pengetahuan pasien terhadap penyakit diabetes melitus adalah edukasi diabetes yang lebih spesifik dan akses yang mudah untuk kontrol ke fasilitas kesehatan (Larasati *et al.*, 2019)

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa lebih dari 70% pasien tidak minum obat sesuai dengan dosis yang seharusnya. Kepatuhan pasien dalam minum obat juga belum baik sehingga berakibat tidak ada perbaikan yang signifikan pada hasil target terapi (Yasmin *et al.*, 2016). Teknologi digital menjadi sumber daya penting untuk penyampaian layanan kesehatan. Penggunaan teknologi seluler nirkabel sangat relevan di era digitalisasi ini karena kemudahan penggunaan dan jangkauan penerimaan yang luas. Penggunaan internet dan *smartphone* telah lama diteliti dan terbukti efektif dalam meningkatkan status kesehatan masyarakat. Akses internet memudahkan masyarakat untuk mencari informasi dan pembelajaran spesifik. Pencarian informasi didominasi oleh pemanfaatan internet melalui media (Ekadinata dan Widyandana, 2017).

Tren media sosial terkini mengarah ke layanan jejaring sosial, salah satunya adalah *WhatsApp* (WA). Aplikasi WA dapat digunakan sebagai media sarana komunikasi efektif di dunia kesehatan. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa edukasi penggunaan obat melalui WA dengan media berupa pesan teks, poster, dan video edukasi secara efektif dapat meningkatkan pengetahuan dan kualitas hidup pasien diabetes melitus (Boulos *et al.*, 2016). Penelitian yang serupa pernah dilaksanakan oleh (Susanto *et al.*, 2019) menyatakan bahwa edukasi menggunakan media sosial dapat meningkatkan kepatuhan penggunaan obat selama kurun waktu empat minggu. Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti berkeinginan untuk melakukan penelitian terkait peran media sosial WA dalam meningkatkan pengetahuan dan kepatuhan pasien. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas edukasi menggunakan media sosial WA dalam meningkatkan pengetahuan dan kepatuhan pasien Diabetes Melitus Tipe 2.

2. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *quasi experimental, pretest-posttest design with control group* dan pengambilan sampel menggunakan teknik *convenience sampling*. Penelitian ini dibagi menjadi dua bagian, yaitu kelompok yang mendapatkan perlakuan (intervensi) dan kelompok kontrol. Subyek penelitian yang telah terpilih kemudian dibagi secara acak menjadi kelompok kontrol dan intervensi masing-masing 37 sampel untuk kelompok kontrol dan 38 sampel untuk kelompok intervensi. Kelompok kontrol dan intervensi tetap mendapatkan layanan apoteker pada umumnya, namun untuk kelompok intervensi mendapatkan perlakuan tambahan berupa edukasi penggunaan obat melalui pesan teks dan aplikasi WA. Kelompok intervensi akan mendapatkan edukasi penggunaan obat antidiabetik oleh apoteker melalui pesan teks dan *leaflet* melalui aplikasi WA. Kelompok kontrol merupakan kelompok yang tidak mendapatkan layanan edukasi apoteker melalui aplikasi WA. Subyek penelitian adalah semua pasien Diabetes Melitus Tipe 2 yang terdaftar di Puskesmas Mlati II yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah pasien DM tipe 2 dengan usia ≥ 18 tahun baik memiliki penyakit penyerta atau tidak dan telah melakukan pemeriksaan rutin minimal 3 bulan sebelum penelitian dilakukan, memperoleh obat antidiabetik, pasien dan atau keluarga pasien memiliki *smartphone* dengan aplikasi WA dan dapat membaca dan berkomunikasi dengan baik. Kriteria eksklusi dalam penelitian ini adalah pasien yang tidak datang kembali setelah 4 minggu pengambilan data pretest. Penelitian ini telah mendapatkan izin dari Komisi Etik Fakultas Kesehatan Unjaya dengan nomor SKep/0291/KEPK/X/2021.

Sebelum dilakukan edukasi oleh apoteker, kedua kelompok diukur tingkat pengetahuan dan kepatuhan sebagai data *pretest*. Setelah mendapatkan hasil *pretest*, kelompok intervensi mendapatkan edukasi penggunaan obat dengan pesan teks dan *leaflet* yang dikirimkan melalui WA setiap minggu selama 1 bulan. Edukasi penggunaan obat melalui pesan teks dan *leaflet* dilakukan untuk semua pasien pada kelompok intervensi secara seragam. Pesan teks dan *leaflet* dibuat sama untuk semua pasien yang berada pada kelompok intervensi. Setelah dilakukan

edukasi penggunaan obat selama 1 bulan, tingkat pengetahuan dan kepatuhan diukur untuk mendapatkan hasil *posttest*. Data dikumpulkan secara prospektif dan hasil penelitian disajikan secara deskriptif dan analitik. Pengumpulan data terdiri dari atas data primer dan sekunder. Data primer merupakan data yang diperoleh langsung dari sampel penelitian dengan metode wawancara langsung ke pasien meliputi usia, jenis kelamin, penyakit penyerta, riwayat pendidikan, kuisioner pengetahuan dan kuisioner kepatuhan penggunaan obat. Data sekunder merupakan data yang diperoleh peneliti dari berbagai sumber yang telah ada melalui rekam medis pasien untuk mengambil data pengobatan pasien.

Pengukuran tingkat pengetahuan dan kepatuhan dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan. Pengukuran tingkat pengetahuan menggunakan kuisioner *Diabetes Knowledge Questionnaire-24* (DKQ24) dan pengukuran kepatuhan menggunakan kuisioner *Medication Adherence Report Scale-5* (MARS-5). Pemilihan tingkat kepatuhan dikatakan tinggi apabila pasien mendapatkan skor kuisioner MARS-5 yaitu 25 dan dikatakan rendah apabila pasien mendapatkan skor kuisioner MARS-5 yaitu 5-24. Kuisioner DKQ-24 (*Diabetes Knowledge Questionnaire*) merupakan kuisioner tentang pengetahuan diabetes melitus dengan 24 pertanyaan. Pertanyaan dengan pilihan jawaban benar (1), jawaban salah dan tidak tahu (0). Hasil dari kuisioner kemudian dijumlahkan dari pertanyaan no 1-24 dengan kategori rendah (skor 0-9), sedang (10-16) dan tinggi (17-24). Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan *software* statistik terkomputerisasi. Data karakteristik pasien dianalisis secara deskriptif. Analisis bivariat dilakukan dengan uji *Wilcoxon* untuk menguji nilai *pretest* dan *posttest* dari kelompok kontrol dan intervensi dan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antara kelompok kontrol dan intervensi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Gambaran karakteristik responden

Penelitian ini menggunakan sampel pasien DM tipe 2 di Puskesmas Mlati II yang berusia lebih dari 18 tahun dengan atau tanpa penyakit penyerta, dan mendapatkan terapi dengan obat antidiabetik baik antidiabetik oral maupun injeksi insulin selama minimal 3 bulan berturut-turut. Total jumlah sampel yang digunakan adalah 75 pasien yang terbagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol (tidak mendapatkan edukasi apoteker melalui WA) sebanyak 37 pasien dan kelompok intervensi (mendapatkan edukasi apoteker melalui WA) sebanyak 38 pasien. Edukasi yang dilakukan oleh apoteker adalah dengan memberikan *leaflet* dan pemantauan terapi pasien melalui WA yang dilakukan selama empat minggu dalam satu bulan.

Karakteristik responden pada penelitian (Tabel 1) menunjukkan bahwa usia merupakan salah satu faktor risiko timbulnya penyakit DM tipe 2 (Farida et al., 2021). Pasien dengan usia ≥ 45 tahun lebih berisiko menderita DM dan gangguan metabolisme glukosa sehingga semakin bertambahnya usia maka semakin berkurang fungsi tubuh terutama sel beta pankreas dalam memproduksi insulin yang berfungsi untuk metabolisme glukosa (Jasmine et al., 2020). Berdasarkan karakteristik jenis kelamin, perempuan memiliki faktor risiko tinggi terkena DM dibandingkan laki-laki karena adanya peningkatan indeks massa tubuh (IMT). DM tipe 2 juga

banyak terjadi pada perempuan karena dipengaruhi oleh adanya hormon estrogen. Hormon estrogen pada perempuan dapat menyebabkan adanya respon penekanan pada hormon insulin. Perlawanan kerja hormon insulin menyebabkan pankreas bekerja lebih berat untuk menghasilkan insulin dan semakin lama pankreas tidak berfungsi secara optimal sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan kadar glukosa darah (Fatiha dan Sabiti, 2021).

Tabel 1. Distribusi karakteristik pasien DM tipe 2 di Puskesmas Mlati II, Sleman, Yogyakarta.

Variabel	Kelompok			
	Kontrol (n=37)		Intervensi (n=38)	
	n	%	n	%
Usia (tahun)				
18-45	3	8,11	3	7,89
46-60	6	16,22	20	52,63
61-75	24	64,86	13	34,21
76-90	4	10,81	2	5,26
Jenis Kelamin				
Laki-laki	11	29,73	17	44,74
Perempuan	26	70,27	21	55,26
Riwayat Pendidikan				
SD	7	18,92	5	13,16
SMP	2	5,41	3	7,89
SMA	22	59,46	21	55,26
Diploma/ Sarjana	6	16,22	9	23,68
Penyakit Penyerta				
Tanpa Penyerta	8	21,62	7	18,42
Ada penyerta	29	78,38	31	81,58

Penelitian yang dilakukan oleh Trisnawati dan Setyonegoro pada tahun 2013 menyebutkan bahwa semakin tinggi tingkat pendidikan yang dimiliki maka pasien akan lebih mengetahui tentang kondisi kesehatan, target terapi dan dapat meningkatkan kesadaran dalam menjaga kesehatan (Trisnawati dan Setyorogo, 2013). Pasien yang berpendidikan tinggi akan lebih memahami penyakit DM dan dampaknya terhadap kesehatan mereka. Tingkat pengetahuan pasien yang tinggi berhubungan dengan pemahaman pasien sehingga pasien dapat menangani penyakit mereka dengan tepat (Pahlawati dan Nugroho, 2019). Penyakit penyerta yang paling banyak diderita oleh pasien DM tipe 2 pada penelitian ini adalah hipertensi. Hipertensi merupakan faktor risiko utama terjadinya DM tipe 2. Hipertensi membuat sel menjadi tidak sensitif terhadap insulin (resistensi insulin) (Sanmulia *et al.*, 2020).

3.2. Pengaruh edukasi apoteker menggunakan *whatsapp* terhadap tingkat pengetahuan responden

Penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian edukasi oleh apoteker melalui media WA terhadap tingkat pengetahuan penggunaan obat antidiabetik baik pada kelompok kontrol maupun kelompok intervensi. Data yang diperoleh kemudian diuji dengan uji *Wilcoxon*. Uji *Wilcoxon* digunakan untuk mengukur perbedaan hasil *pretest* dan *posttest* baik pada kelompok kontrol maupun intervensi. Apabila nilai signifikansi $<0,05$ maka

terdapat pengaruh edukasi yang dilakukan oleh apoteker melalui media WA sebelum dan sesudah adanya intervensi sedangkan jika nilai signifikansi $>0,05$ maka tidak terdapat pengaruh edukasi yang dilakukan oleh apoteker melalui media WA sebelum dan sesudah adanya intervensi. Pada penelitian ini, nilai signifikansi yang didapatkan untuk kelompok intervensi adalah $p=0,000$ ($p<0,05$) yang bermakna bahwa edukasi yang diberikan oleh apoteker terbukti secara signifikan berpengaruh terhadap tingkat pengetahuan pasien DM tipe 2.

Tabel 2. Hasil uji beda antara pengetahuan sebelum dan sesudah edukasi melalui WA pada kelompok kontrol dan intervensi. Keterangan: ^a Hasil uji statistik dengan *Wilcoxon*, ^b Hasil uji statistik dengan *Mann-Whitney*.

Pengetahuan	Kelompok					
	Kontrol (n=37)		Sig ^a	Intervensi (n=38)		Sig ^b
	<i>Pre</i>	<i>Post</i>		<i>Pre</i>	<i>Post</i>	
Rendah (0-9)	8	2	0,073 ^a	5	0	0,000 _a 0,021 _b
Sedang (10-16)	21	17		17	9	
Tinggi (17-24)	8	18		16	29	
Rata-rata	13,46±4,32	16,05±4,24		15,74±5,37	20,45±3,94	

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi peningkatan pengetahuan pada kelompok intervensi setelah mendapatkan edukasi menggunakan aplikasi WA (Tabel 2). Salah satu indikator tercapainya edukasi yang dilakukan oleh apoteker adalah dengan terwujudnya peningkatan pengetahuan pasien. Bertambahnya tingkat pengetahuan pasien akan mendorong upaya peningkatan kesehatan berkelanjutan seperti mengubah gaya hidup lebih sehat, mematuhi terapi yang telah diberikan, dan pasien memiliki kualitas hidup yang lebih baik (Hanifa dan Mentari, 2020). Pasien dengan pengetahuan rendah cenderung lebih sulit menerima informasi baru. Pasien menjadi tidak terbuka dengan perkembangan informasi sehingga tidak dapat mengelola penyakitnya dengan tepat (Larasati *et al.*, 2019). Ada kemungkinan apabila pasien memiliki tingkat pendidikan rendah tetapi dapat memiliki pengetahuan yang baik karena pasien di era digital ini dapat mengakses informasi dari berbagai media sehingga pengetahuannya dapat meningkat (Widyastuti *et al.*, 2019). Tingginya pengetahuan yang dimiliki oleh pasien menunjukkan bahwa pasien telah mengerti dan memahami tujuan dari pengobatan yang telah dijalani. Tidak dipungkiri tingkat pengetahuan pasien juga sering dikaitkan dengan kepatuhan pasien DM (Farida *et al.*, 2021).

3.3. Pengaruh edukasi apoteker menggunakan WA terhadap tingkat kepatuhan responden

Pada penelitian ini dilakukan analisis ada tidaknya pengaruh edukasi yang dilakukan oleh apoteker melalui media WA terhadap tingkat kepatuhan menggunakan obat antidiabetik pada masing-masing kelompok kontrol dan intervensi. Data yang diperoleh kemudian diuji dengan uji *Wilcoxon*. Uji *Wilcoxon* digunakan untuk mengukur beda antara kelompok *pretest* dan *posttest* baik pada kelompok kontrol maupun intervensi. Apabila nilai signifikansi $<0,05$ maka terdapat pengaruh edukasi yang dilakukan oleh apoteker melalui media WA sebelum dan

sesudah adanya intervensi sedangkan jika nilai signifikansi $>0,05$ maka tidak terdapat pengaruh edukasi yang dilakukan oleh apoteker melalui media *WhatsApp* sebelum dan sesudah adanya intervensi. Nilai signifikansi yang diperoleh untuk kelompok intervensi $p=0,000$ ($p<0,05$) yang bermakna edukasi yang diberikan oleh apoteker terbukti signifikan berpengaruh terhadap kepatuhan minum obat antidiabetik.

Tabel 3. Hasil uji beda antara kepatuhan sebelum dan sesudah edukasi melalui wa pada kelompok kontrol dan intervensi. Keterangan: ^a Hasil uji statistik dengan Uji *Wilcoxon*, ^b Hasil uji statistik dengan Uji *Mann Whitney*.

Kepatuhan	Kelompok					
	Kontrol (n=37)		Sig ^a	Intervensi (n=38)		Sig ^a
	<i>Pre</i>	<i>Post</i>		<i>Pre</i>	<i>Post</i>	
Rendah (5-24)	34	25	0,069 ^a	35	15	0,000 ^a
Tinggi (25)	3	12		3	23	
Rata-rata	13,81±6,68	20,46±4,32		15,63±5,5	23,37±2,15	0,003 ^b

Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah pemberian intervensi yaitu edukasi apoteker menggunakan media WA dapat meningkatkan kepatuhan pasien dalam mengkonsumsi obat antidiabetik (Tabel 3). Hasil pada kelompok kontrol juga diketahui terdapat peningkatan nilai skor kepatuhan namun setelah dilakukan uji statistik peningkatan tersebut tidak bermakna secara signifikan ($p>0,05$). Rata-rata perubahan skor kepatuhan setelah adanya intervensi terlihat berbeda bermakna jika dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p<0,05$). Hasil penelitian ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Azhimah *et al.*, 2023) yang menyatakan bahwa pemberian media edukasi yang dilakukan oleh apoteker lebih baik dibandingkan tanpa intervensi (hanya mendapatkan Pelayanan Informasi Obat). Selama sesi *pretest*, rata-rata pasien menyatakan bahwa lupa meminum beberapa obat baik secara sadar maupun tidak sadar tetapi tidak pernah melewatkan satu dosis. Mayoritas pasien menyatakan ketidak patuhan karena mereka merasa kondisi mereka sudah membaik, mereka tidak membawa obat saat berada di luar rumah, dan mereka khawatir bahwa mengonsumsi obat jangka panjang dapat menyebabkan kerusakan ginjal. Setelah dilakukan edukasi oleh apoteker melalui media WA pada kelompok intervensi terjadi peningkatan kepatuhan minum obat. Keadaan ini menunjukkan bahwa adanya intervensi apoteker untuk mengendalikan pengobatan di rumah memberikan dampak positif terhadap kepatuhan. Konseling apoteker adalah salah satu faktor penting untuk meningkatkan kepatuhan minum obat sehingga luaran klinik berupa kadar gula darah terkontrol akan tercapai secara maksimal (Padmasari *et al.*, 2021).

Konseling oleh Farmasis terbukti mampu meningkatkan kepatuhan pasien dalam menggunakan obat antidiabetik. Peningkatan ini terlihat setelah pasien adanya edukasi melalui WA, yang menunjukkan bahwa edukasi tersebut membantu pasien memperbaiki perilaku penggunaan obat, sehingga berdampak positif pada tingkat kepatuhan. Hasil ini juga mengindikasikan bahwa aplikasi WA dapat berfungsi sebagai media komunikasi yang efektif dalam mendukung edukasi penggunaan obat oleh apoteker (Fatiha dan Sabiti, 2021). Keterbatasan penelitian yang telah dilakukan yaitu belum dilakukan analisis mendalam terkait

pola jawaban kuisioner kepatuhan dan pengetahuan yang dapat menjadi dasar untuk meningkatkan kualitas media edukasi apoteker di masa mendatang.

4. KESIMPULAN

Terdapat hubungan yang signifikan antara edukasi yang dilakukan oleh apoteker melalui media WA selama kurun waktu satu bulan terhadap tingkat pengetahuan dan kepatuhan pada pasien DM tipe 2 ($p < 0,05$).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada PPPM Fakultas Kesehatan Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta atas dana hibah penelitian internal dan Puskesmas Mlati II Sleman, Yogyakarta.

DEKLARASI KONFLIK KEPENTINGAN

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Azhimah, H., Syafhan, N. F., & Manurung, N. (2023). Efektifitas Video Edukasi dan Kartu Pengingat Minum Obat Terhadap Kepatuhan Pengobatan dan Kontrol Tekanan Darah pada Pasien Hipertensi. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 9(3), 291. <https://doi.org/10.25077/jsfk.9.3.291-301.2022>
- Boulos, M. N. K., Giustini, D., & Wheeler, S. (2016). Instagram and WhatsApp in Health and Healthcare: An overview. *Future Internet*, 8(3). <https://doi.org/10.3390/fi8030037>
- Ekadinata, N., & Widyandana, D. (2017). Promosi Kesehatan Menggunakan Gambar dan Teks dalam Aplikasi WhatsApp pada Kader Posbindu. *BKM Journal of Community Medicine and Public Health*, 33(11), 547–552.
- Farida, Y., Salsabila, Y. Z., Amsari, A., Niruri, R., Yugatama, A., Handayani, N., & Prihapsara, F. (2021). Analisis Hubungan Pengetahuan Terhadap Kepatuhan Terapi Pada Pasien Hipertensi di Puskesmas Pucang Sawit Surakarta. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 6(3), 264. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v6i3.53112>
- Fatiha, C. N., & Sabiti, F. B. (2021). Peningkatan Kepatuhan Minum Obat Melalui Konseling Apoteker pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 di Puskesmas Halmahera Kota Semarang. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 6(1), 41. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v6i1.39297>
- Hanifa, D. N. C., & Mentari, I. A. (2020). Pengaruh Pemberian Konseling Menggunakan Booklet terhadap Pengetahuan Diabetes Mellitus Masyarakat di Kecamatan Anggana, Kalimantan Timur. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS): Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, 5(1), 20–26. <https://doi.org/10.36387/jiis.v5i1.367>
- Jasmine, N. S., Wahyuningsih, S., & Thadeus, M. S. (2020). Analisis Faktor Tingkat Kepatuhan Minum Obat Pasien Diabetes Melitus di Puskesmas Pancoran Mas Periode Maret-April 2019. *Jurnal Manajemen Kesehatan Indonesia*, 8(1), 61–66.
- Larasati, L. A., Andayani, T. M., & Kristina, S. A. (2019). Hubungan Tingkat Pengetahuan terhadap Outcome Klinik Pasien Diabetes Melitus Tipe 2. *Journal of Management and Pharmacy Practice*, 9(2). <https://doi.org/10.22146/jmpf.43489>
- Padmasari, S., Azizah, F. N., & Larasati, N. (2021). Edukasi Home Pharmacy Care terhadap Kepatuhan dan Kontrol Glukosa Darah pada Pasien Diabetes Melitus. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 8(2), 182. <https://doi.org/10.25077/jsfk.8.2.182-189.2021>

- Pahlawati, A., & Nugroho, S. (2019). Hubungan Tingkat Pendidikan dan Usia dengan Kejadian Diabetes Melitus di Wilayah Kerja Puskesmas Palaran Kota Samarinda Tahun 2019. *Borneo Student Research*, 1–5.
- Sanmulia, S. F., Elfasyari, T. Y., & Pratama M Renaldy. (2020). Hubungan Karakteristik Pasien Diabetes Melitus dan Tingkat Kepatuhan Minum Obat di Rumah Sakit X Kota Batam. *Jurnal JUMANTIK*, 5(2), 138–146.
- Susanto, Y., Lailani, F., Alfian, R., Rianto, L., Febrianti, D. R., Aryzki, S., Prihandiwati, E., & Khairunnisa, N. S. (2019). Pemanfaatan Media Sosial Untuk Meningkatkan Kepatuhan Minum Obat Pasien Diabetes Melitus Rawat Jalan di RSUD Ulin Banjarmasin. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 4(1), 88–96.
- Trisnawati, S. K., & Setyorogo, S. (2013). Faktor Risiko Kejadian Diabetes Melitus Tipe II di Puskesmas Kecamatan Cengkareng Jakarta Barat Tahun 2012. In *Jurnal Ilmiah Kesehatan* (Vol. 5, Issue 1).
- Widyastuti, S., Yasin, N. M., & Kristina, S. A. (2019). Pengaruh Home Pharmacy Care Terhadap Pengetahuan , Kepatuhan , Outcome Klinik dan Kualitas Hidup Pasien Hipertensi. *Majalah Farmaseutik*, 15(2), 105–112.
- Yasmin, R. A., Ayu, W. D., & Rijai, L. (2016). Karakteristik dan Tingkat Kepatuhan Pasien Diabetes Melitus di RSUD A.W. Sjahranie Periode Desember 2015- Januari 2016. Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian, April, 75–80. <https://doi.org/10.25026/mpc.v3i1.69>

Tamanu Oil (*Calophyllum inophyllum* L.) Promotes Wound-Healing Activity in Alloxan-Induced Diabetic Rats, and Its Fatty Acids Profile

**Rita Rakhmawati*, Saptono Hadi, Ahmad Ainurofiq, Estu Retnaningtyas
Nugraheni, Syaiful Choiri and Tiara Dewi Salindri Pratama**

Department of Pharmacy, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas
Sebelas Maret, Surakarta, Indonesia

*Corresponding author: ritarakhmawati@staff.uns.ac.id

Received: November 1, 2023; **Accepted:** September 13, 2024; **Published:** October 7, 2024

Abstract

Diabetes Mellitus (DM) is a metabolic disease and is a severe threat because it causes diabetic wounds. Treating injuries in patients with DM is dominated by synthetic chemicals such as anti-inflammatory, corticosteroids, and antibacterial. It has side effects, so further exploration of natural ingredients is needed. One plant that has the potential to heal wounds is tamanu oil or nyamplung oil. This study aimed to investigate the effect of tamanu oil on the healing of diabetic wounds and the fatty acid composition profile. Male rats of the Wistar strain (*Ratus norvegicus*) were given incision wounds along a 2 cm depth of 2 mm, randomly divided into three groups, by applying topically twice a day. We were profiling fatty acids using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). As far as we know, this is the first study showing that tamanu oil can speed up the healing of diabetic wounds in rats. The Tamanu oil containing oleic acid (42.65%), linoleic acid (25.69%), stearic acid (16.50%), and palmitic acid (12.93) had better effectiveness than other groups, demonstrated by wound closure exceeding 50% on day six and wound closure by 100% on day nine.

Keywords: Bioactive; Diabetic Rats; Fatty Acids; Nyamplung; Wound Healing

1. INTRODUCTION

Diabetes Mellitus (DM) is included in the top 10 causes of death globally. The International Diabetes Federation (IDF) reported that as of May 2020, there are 463 million people in the world suffering from DM, with a global prevalence reaching 6.12% (International Diabetes Federation, 2021). DM threatens health development in Indonesia because it can cause blindness, kidney failure, heart disease, stroke, infection, slowed wound healing, and diabetic foot ulcers (gangrene), so they must be amputated and cause chronic wound growth (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2013; Uckay et al., 2014). Synthetic chemicals such as anti-inflammatories, corticosteroids, and antibiotics dominate wound treatment in patients with DM. Synthetic drugs have many shortcomings, such as relatively high prices, side effects, and somewhat less effectiveness in treating chronic wounds of DM sufferers (Pereira and Paulo, 2016). Therefore, another way is needed to treat wounds in diabetic patients optimally.

One plant that has the potential to heal wounds is tamanu oil or nyamplung oil (Java). Tamanu (*Calophyllum inophyllum* L.) is obtained from cold-pressed and used as a carrier oil (Ansel et al., 2016). The benefits of tamanu oil include anti-inflammatory, antioxidant, antibacterial, antiviral, antifungal, photoprotective, and wound healing (Bhalla et al., 1980; Yimdjo et al., 2004; Saravanan et al., 2011). Nguyen and Trans (2016) reported nine saturated fatty acids (caprylic, capric, lauric, myristic, palmitic, stearic, arachidic, behenic, and lignoceric) and 9 unsaturated fatty acids (oleic acid, linoleic acid, α -linolenic, γ -linolenic, eicosenoic, arachidonic, eicosapentaenoic, erucic, docosahexaenoic) which were identified in tamanu oil and these compounds inhibit some strains *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29213, MRSA ATCC 43300, *P. aeruginosa* ATCC 277853 and anti-inflammatory agent. Besides fatty acids, polyphenols, calophyllolide, inophyllum, and calophyllic acids are the chemical constituents of *C. inophyllum* L that are also involved in wound healing functions (Dweck et al., 2002). Based on research by Erdogan et al. (2021), which assessed the ability of tamanu oil to cure skin wounds, demonstrated that the tamanu and Centella groups had considerably higher levels of mature granulation tissue and macrophage infiltration than the control group.

Furthermore, the tamanu group had higher concentrations of collagen and fibrosis than the other groups. Research by Krishnappa et al. (2024) also revealed that tamanu oil markedly enhances wound healing and minimizes scarring in Wistar rats within 15 days. The group treated with tamanu oil exhibited complete wound closure with minimal scar formation, in contrast to other treatment groups that required a longer duration for healing. Although various studies have documented the wound-healing properties of tamanu oil, none have specifically explored its potential in treating diabetic wounds despite its known antibacterial and anti-inflammatory properties. Therefore, this study aimed to examine the effects of tamanu oil on diabetic wound healing and to analyze its fatty acid profile through gas chromatography.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Materials

The study subjects were 18 white rats of the male Wistar strain with an average weight of 200g, aged 1.5-2 months. Approval was obtained from the Health Research Ethics Committee of Dr. Moewardi General Hospital, Number 1.690/IX/HREC/2023. Tamanu oil (CV. Plantanesia), commercial product[®] (Kimia Farma) gel, alloxan monohydrate, *scalpel* (B-Braun), and *alcohol swab*.

2.2 Methods

The study was conducted experimentally at the Integrated UPT Biology Sub-Laboratory, Universitas Sebelas Maret, Surakarta. The subjects were divided randomly into three groups: the negative control group (no treatment), the positive control (commercial), and the tamanu oil group, applying twice daily. Test animals were acclimatized before treatment. Rats induced diabetes subcutaneously with Alloxan monohydrate at a dose of 120 mg/kg body weight and

tested blood sugar levels seven days after induction. Glucose levels in rats were measured using a glucometer before and after alloxan monohydrate induction. Diabetes was identified in rats when their blood glucose levels were greater than 126 mg/dL. (Rahmawati et al., 2014). Incised wounds were made 2 cm long with a depth of 2 mm on the back of the rat's back using a scalpel. The parameter observed was the average percentage of wound length during the 12 days of observation. The fatty acid content of tamanu oil was analyzed using a high-performance gas chromatography system (Hawlet, USA) with an 18-6-1/MU/SMM-SIG method. The fatty acid profile was determined through gas chromatography (GC) utilizing a DB FastFAME column and a flame ionization detector (FID). Helium served as the carrier gas. The sample, injected in split mode at 240 °C with a volume of 1 μ L, was analyzed with the oven temperature initially set at 50 °C and then gradually raised to 230 °C (Romulo and Sadek, 2022).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Wound healing activity

The average blood sugar of rats induced by alloxan monohydrate is 158.83mg/dL, which showed that the induction of alloxan monohydrate has been successful. The rats were characterized by the clinical condition of rats in the form of lethargy and inactivity as before compared to controls. Compared to the other groups during a 12-day observation period, the test findings demonstrated that tamanu oil had activity as diabetic wound healing in terms of the percentage of wound healing (Figure 1).

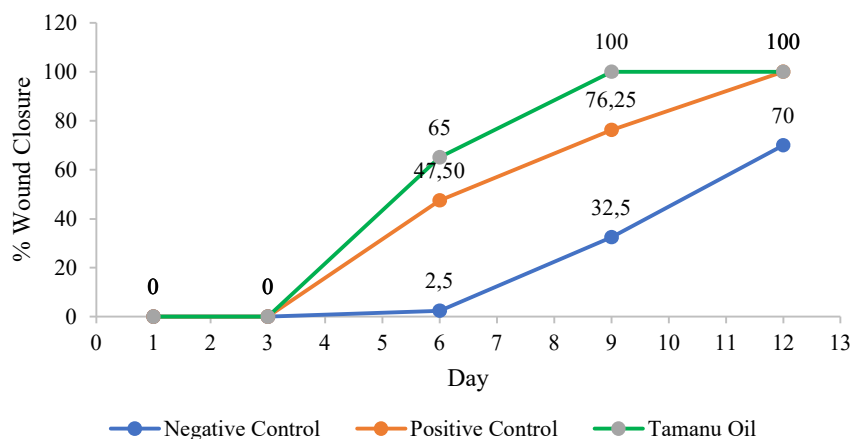


Figure 1. The percentage of wound closure for 12 days of the negative control group (no treatment), the positive control (commercial drug), and the tamanu oil (*Calophyllum inophyllum* L.).

Based on observations conducted on days 3, 6, and 9, the statistical results indicated no significant difference (p -value <0.05) in the percentage of wound healing between the tamanu oil group and the other groups. Statistical testing was then used for Kruskal Wallis due to significant <0.05 . Tamanu oil resulted in a wound healing percentage of up to 50% on day six and wound closure of 100% on day 9. It showed that the effectiveness of wound healing was

better than the other control groups. Figure 2 depicted the appearance of the wound size in rats given tamanu oil application for a period of 12 days.

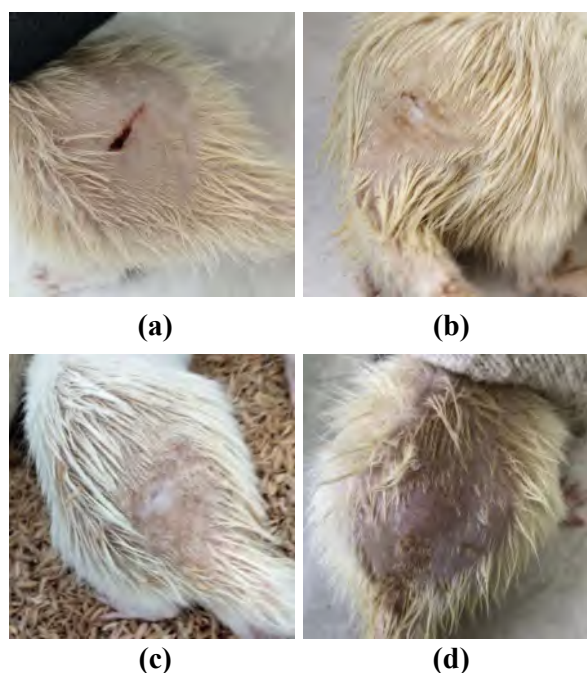


Figure 2. Observation of wound length of rats giving tamanu oil (*Calophyllum inophyllum* L.).
Description: Day 3 (a); Day 6 (b); Day 9 (c); Day 12 (d).

3.2. Fatty acid profile of tamanu oil

Some fatty acids were identified in tamanu oil (Table 1). The fatty acid profile of the Tamanu oil in our investigation and relevant findings from the literature are shown in Table 1. The results showed that the primary fatty acids identified in Tamanu oil were oleic acid (42.65%), linoleic acid (25.69%), stearic acid (16.50%), and palmitic acid (12.93%). We observed that the high content of oleic acid and linoleic acid was in close agreement with the results from other researchers (Crane et al., 2005; Do, 2022; Nguyen and Tran (2016)). The remarkably high content of those components makes tamanu oil a potential plant source of Omega-6 and Omega-9. Omega, a blend of vital fatty acids, is among tamanu oil's most significant constituents, aiding in healing several skin wounds and cell regeneration. Linoleic acid, an omega-6 fatty acid, has anti-inflammatory and analgesic properties, healing injuries and treating skin diseases (Nguyen and Tran, 2016). Fatty acids may play a role in promoting the healing of skin wounds, according to several studies (Léguillier et al., 2015; Jara et al., 2020). Oleic acid also could increase the synthesis of CINC-2a/b, a cytokine-induced neutrophil chemoattractant. Therefore, oleic and linoleic acids have a pro-inflammatory action that may hasten the healing of wounds (Pereira et al., 2008). Rodrigues et al. (2016) revealed that linoleic acid decreased the area of the wound in diabetic rats after 14 days of wound induction. Moreover, it decreased the production of macrophage inflammatory protein-1 (MIP-1) and

macrophage chemoattractant protein-1 (MCP-1) and elevated the amounts of leukotriene B4 (LTB4), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and cytokine-induced neutrophil chemotaxis (CINC-2 $\alpha\beta$).

In this study, the test results showed that tamanu oil can be used to treat diabetic wounds. The wound-healing ability of tamanu oil emulgel is caused by the presence of bioactive compounds that play a role in the wound-healing process, including calophyllolide, innophyllide, oleic acid, linoleic acid, saponins, triterpenes (Dweck and Meadows, 2002; Min Oo, 2018; Nguyen and Tran, 2016). Oleic and linoleic acid-containing fatty acid mixes have been utilized in Brazil to prevent and cure pressure ulcers (Jara et al., 2020). The process of wound healing is dynamic and consists of four phases: wound remodeling with the creation of scar tissue, inflammation, coagulation and hemostasis, and proliferation. However, bacterial contamination poses a serious threat to the healing process of wounds. A bacterial infection can result in a chronic inflammatory state for the wound. Thus, if adequate treatment is not given, the wound may become nonhealing or chronic (Nguyen et al., 2017). According to research by Nguyen et al. (2017), *Calophyllum inophyllum* oil (CIO) has wound healing and antibacterial effects in vitro tests on HaCaT cells. The concentration of CIO needed to prevent wound healing and bacterial growth is less than the concentration of CIO, which causes keratinocyte cells to become cytotoxic, supporting the topical use of CIO. Other studies have shown that Tamanu Oil Emulsion (TOE) can increase collagen production when tested for its healing effect on keratinocyte (HaCaT) and fibroblast (HDF) cells and can accelerate the wound closure process in the scratched fibroblast monolayer layer (Ansel et al., 2016).

Table 1. The fatty acid component in tamanu oil (*Calophyllum inophyllum* L.).

Components		This study content (%)	Do's study (Do, 2022)	Sylvie Crane's study (%) (Crane et al., 2005)	Nguyen's study (Nguyen & Tran, 2016)
Oleic acid	C18:1	42.65	41.88	39.10	37.66
Linoleic acid	C18:2	25.69	29.94	31.10	33.86
Stearic acid	C18:0	16.50	13.52	14.30	13.25
Palmitic acid	C16:0	12.93	12.69	13.70	13.09

The methanol extract of *C. inophyllum* showed potent antibacterial activity (17 ± 1.73 to 24 ± 1.15 mm) against *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa*. It was identified as 4Pentan-2-ol -(3-methylazetididin-1-yl) (Anjukam et al., 2023). Tamanu oil also showed an antibacterial effect on *Propionibacterium acnes* ($19,67 \pm 0,47$ mm) (Artanti et al., 2020). In addition to the tamanu oil, it has been documented that every component (leaves, bark, fruits, and fruit peels) possesses antibacterial qualities against a range of gram-positive and gram-negative bacteria, including *Bacillus coagulans*, *Salmonella typhi*, and *Pseudomonas aeruginosa*. (Ha et al., 2009; Mishra et al., 2010; Kumar and Garg, 2020; Liang et al., 2022). Consistent with previous findings, the primary component of *Calophyllum inophyllum*, calophyllolide, enhanced the healing of

cutaneous wounds (Nguyen et al., 2017). Based on this potential, tamanu oil can be developed to treat diabetic wounds. We suggested that other dosage forms can be developed further for topical use.

4. CONCLUSION

Tamanu oil containing oleic acid, linoleic acid, stearic acid, and palmitic acid, when applied topically, helps accelerate the healing of diabetic wounds. Tamanu oil could heal wounds faster and more effectively than the other groups. This work presents the potential of tamanu oil to promote diabetic wound healing in rats, which could lead to the development of new applications for the oil in medicine.

ACKNOWLEDGMENT

We thank and acknowledge Universitas Sebelas Maret for the Non-PNBP 2023 Grant with contract number No. 228/UN27.22/PT.01.03/2023, which has funded this research.

CONFLICT OF INTEREST

All authors declared that there was no conflict of interest.

REFERENCES

- Anjukam, E., Ramesh, M., Rajalakshmi, A., Kavitha, K., Prakash, M., Suresh, G., Puvanakrishnan, R., and Ramesh, B. (2023). Molecular Characterization of Potent Antibacterial Compound 4-(3-Methylazetidin-1-Yl) Pentan-2-Ol from *Calophyllum inophyllum* Seed Oil. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 47, 1-11.
- Ansel J.L., Lupo E., and Mijouin L. (2016). Biological Activity of Polynesian *Calophyllum inophyllum* Oil Extract on Human Skin Cells. *Planta Med*, 82(11), 961–966.
- Artanti, A.N., Rahmawati, K.N., Rakhmawati, R., and Prihapsara, F. (2020). Antibacterial Activities and Anti-Fungus from Combination of Tamanu Oil (*Calophyllum Inophyllum* L.) with Virgin Coconut Oil and Its Development as A Face Oil. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 17(2), 94-106.
- Bhalla, T. N., Saxena, R. C., Nigam, S. K., Misra, G., and Bhargava, K. P. (1980). Calophyllolide--A New Non-Steroidal Anti-Inflammatory Agent. *The Indian Journal of Medical Research*, 72, 762–765.
- Crane, S., Aurore, G., Joseph, H., Mouloungui, Z., & Bourgeois, P. (2005). Composition of fatty acids triacylglycerols and unsaponifiable matter in *Calophyllum calaba* L. oil from Guadeloupe. *Phytochemistry*, 66(15), 1825–1831. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.06.009>
- Dweck, A.C. and Meadows, T. (2002). Tamanu (*Calophyllum inophyllum*) - The African, Asian, Polynesian and Pacific Panacea. *International Journal of Cosmetic Science*, 24(6), 341-348.
- Do, D. N. (2022). Pilot Scale Production of Tamanu (*Calophyllum inophyllum* L.) Oil by Using Hydraulic Pressing: Effect of Processing Parameters. *AIP Conference Proceedings*, 2610(August). <https://doi.org/10.1063/5.0099578>
- Erdogan, S. S., Gur, T. F., Terzi, N. K., & Dogan, B. (2021). Evaluation of the Cutaneous Wound Healing Potential of Tamanu Oil in Wounds Induced in Rats. *Journal of Wound Care*, 30(Sup9a), 1-10. <https://doi.org/10.12968/jowc.2021.30.Sup9a.V>
- Ha, M.H., Van Thi Nguyen, K.Q.C., Nguyen, E.L., and Cheah, P.W. (2009). Antimicrobial

- Activity of *Calophyllum inophyllum* Crude Extracts Obtained by Pressurized Liquid Extraction. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 4(4), 141-146.
- International Diabetes Federation. (2021). *IDF Western Pacific Members*. Available from: <https://idf.org/our-network/regions-members/western-pacific/members/104-indonesia.html>. [Accessed March 20, 2021].
- Jara, C. P., Mendes, N. F., Prado, T. P. D., & de Araújo, E. P. (2020). Bioactive Fatty Acids in the Resolution of Chronic Inflammation in Skin Wounds. *Advances in Wound Care*, 9(8), 472–490. <https://doi.org/10.1089/wound.2019.1105>
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2013). *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Balitbang.
- Krishnappa, M., Abraham, S., Furtado, S. C., Krishnamurthy, S., Rifaya, A., Asiri, Y. I., Chidambaram, K., & Pavadai, P. (2024). An Integrated Computational and Experimental Approach to Formulate Tamanu Oil Bigels as Anti-Scarring Agent. *Pharmaceuticals*, 17(1), 1–15. <https://doi.org/10.3390/ph17010102>
- Kumar, A., and Garg, Y. (2020). In-Vitro Evaluation of Antibacterial, Antifungal, and Anti-HIV Effects of *Calophyllum inophyllum* Leaf Extract. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 13(4), 2003–2014. <https://dx.doi.org/10.13005/bpj/2079>
- Léguillier, T., Lecsö-Bornet, M., Lémus, C., Rousseau-Ralliard, D., Lebouvier, N., Hnawia, E., Nour, M., Aalbersberg, W., Ghazi, K., Raharivelomanana, P., and Rat, P. (2015). The Wound Healing and Antibacterial Activity of Five Ethnomedical *Calophyllum inophyllum* Oils: An Alternative Therapeutic Strategy to Treat Infected Wounds. *PLoS One*, 10, 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138602>
- Liang Y, Liang Y, Zhang H, and Guo B. (2022). Antibacterial Biomaterials for Skin Wound Dressing. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17(3), 353-384. doi: 10.1016/j.ajps.2022.01.001.
- Min Oo, W. (2018). Pharmacological Properties of *Calophyllum inophyllum* – Updated Review. *International Journal of Photochemistry and Photobiology*, 2(1), 28-32. <https://doi.org/10.11648/j.ijpp.20180201.16>
- Mishra, U.S., Murthy, P.N., Choudhury, P.K., Panigrahi, G., Mohapatra, S. and Pradhan, D., (2010). Antibacterial and Analgesic Effects of The Stem Barks of *Calophyllum inophyllum*. *International Journal of Chemtech Research*, 2(2), 973-9.
- Nguyen, V.-L., Truong, C.-T., Nguyen, B.C.Q., Vo, T.-N.V., Dao, T.-T., Nguyen, V.-D., Trinh, D.-T.T., Huynh, H.K., and Bui, C.-B. (2017). Anti-Inflammatory And Wound Healing Activities Of Calophyllolide Isolated From *Calophyllum inophyllum* Linn. *Plos One*, 12, 1-16. <https://doi.org/10.1371/Journal.Pone.0185674>
- Nguyen, H. H., & Tran, T. T. M. (2016). Chemical Composition Analysis and Antibacterial-Anti-inflammatory activity Tests of Tamanu Seed Oil Extracted by Supercritical Fluid Technology. *Science and Technology Development Journal*, 19(3), 146–154. <https://doi.org/10.32508/stdj.v19i3.573>
- Pereira, R.F., and Paulo J.B. (2016). Traditional Therapies for Skin Wound Healing. *Advances in Wound Care*, 5(5), 208-229.
- Pereira, L. M., Hatanaka, E., Martins, E. F., Oliveira, F., Liberti, E. A., Farsky, S. H., Curi, R., & Pithon-Curi, T. C. (2008). Effect of Oleic and Linoleic Acids on The Inflammatory Phase of Wound Healing In Rats. *Cell Biochemistry and Function*, 26(2), 197–204. <https://doi.org/10.1002/cbf.1432>
- Rahmawati, G., Rachmawati, F.N., and Winarsih, H. (2014). Aktivitas Superoksid Dismutase Tikus Diabetes yang Diberi Ekstrak Batang Kapulaga dan Glibenklamid. *Jurnal Scripta Biologica*, 1(3), 197-201.

- Rodrigues, H. G., Vinolo, M. A. R., Sato, F. T., Magdalon, J., Kuhl, C. M. C., Yamagata, A. S., Pessoa, A. F. M., Malheiros, G., Dos Santos, M. F., Lima, C., Farsky, S. H., Camara, N. O. S., Williner, M. R., Bernal, C. A., Calder, P. C., & Curi, R. (2016). Oral Administration of Linoleic Acid Induces New Vessel Formation and Improves Skin Wound Healing in Diabetic Rats. *PLoS ONE*, 11(10), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165115>
- Romulo, A., and Sadek, N. F. (2022). Fatty Acids and Amino Acids Profile of Organic Black Rice (*Oryza sativa* L.) Milk. *IOP Conference Series Earth and Environmental Science*, 980(1), 012032. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/980/1/012032>
- Saravanan R., Dhachinamoorthi D., Senthilkumar K., and Thamizhvanan K. (2011). Antimicrobial Activity of Various Extracts From Various Parts of *Calophyllum inophyllum*. L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(3), 102-106.
- Uckay I., Gariani K, Pataky Z, and Lipsky B.A. (2014). Diabetic Foot Infections: State-of The-Art. *Diabetes, Obesity, and Metabolism*, 16, 305-316.
- Yimdjo, M.C., Azebaze, A.G., Nkengfack, A.E., Meyer, A.M., Bodo, B. and Fomum, Z.T. (2004). Antimicrobial and Cytotoxic Agents from *Calophyllum inophyllum*. *Phytochemistry*, 65(20), 2789-2795.

Antibiofilm Activities of Bioactive Compounds of Local Edible Flowers in Indonesia: A Review

Anwar Rovik^{1*}, Laelatul Afifah¹, Nur Rokhmalia¹, Vania Uly Andrya¹ and Richad²

¹Master Program of Biotechnology, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

²Master Program of Veterinary Science, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

*Corresponding author: anwarrovik@mail.ugm.ac.id

Received: February 7, 2024; **Accepted:** November 4, 2024; **Published:** November 12, 2024

Abstract

Antimicrobial resistance is a growing global health problem. Biofilm formation is a notable risk factor for patient mortality. Various efforts are needed to prevent biofilm formation. Plants have been utilized in traditional medicine practices for centuries. In this review, we present an ethnobotanical study of the use of edible flowers in Indonesia and their potential development as antibiofilm agents. Local communities in Indonesia have long used various flowering plants for traditional ceremonial purposes, aesthetics, cooking ingredients, and medicine. Only a few types of flowers are utilized as food ingredients or edible flowers. There are 25 types of edible flowers from 19 families in Indonesia. Not all edible flowers in Indonesia have been studied for their antibiofilm activities. The presence of bioactive compounds, e.g., alkaloids, saponins, steroids, terpenoids, flavonoids, and phenolics in edible flowers, suggests that they may have the potential to inhibit biofilm formation. Local communities also use edible flowers in traditional medicine practices, including *Hibiscus sabdariffa*, *Jasminum sambac*, *Caesalpinia pulcherrima*, *Punica granatum*, *Blumea balsamifera*, and *Lantana camara*. The bioactive compounds showed antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria, including *Acinetobacter baumannii*, *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Porphyromonas gingivalis*, and *Treponema denticola*. We also highlight the need for further research to explore more edible flowers and their specific effects of the compounds on biofilm formation.

Keywords: Antibiofilm; Bioactive; Edible flowers; Ethnobotany; Traditional medicine

1. INTRODUCTION

Antimicrobial resistance is a growing global health problem. Antimicrobial resistance can lead to extended treatment duration, increased morbidity, and patient mortality (Chiang et al., 2022; Salam et al., 2023). Antimicrobial-resistant bacterial infections generally present a more severe clinical picture in patients than infections by non-resistant bacteria (Chiang et al., 2022). Global data shows a high number of deaths caused by antimicrobial resistance. Infection by antimicrobial-resistant bacteria correlates positively with patient mortality. South Asia, East Asia, and Sub-Saharan Africa regions reported the most cases of patient deaths due to antimicrobial-resistant bacterial infections. The most notable resistant bacteria include *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*,

Streptococcus pneumoniae, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Enterobacter faecium*. Antimicrobial-resistant *E. coli*, for example, has caused the deaths of more than 21,000 patients worldwide (Institute for Health Metrics and Evaluation, 2019).

Biofilm is a bacterial defense mechanism against stress, both biotic and abiotic. Biofilm formation can increase antibiotic resistance and help bacteria thrive in the healthcare environment (Gedefie et al., 2023); for example, increased biofilm formation correlates with the expression of carbapenem resistance in *E. coli* and *K. pneumoniae* (Al-Bayati & Samarasinghe, 2022). In hospitalized patients, biofilm is a notable risk factor for patient mortality, especially in bacteremia conditions (Chiang et al., 2022). Therefore, various efforts are needed to prevent and contain the rate of biofilm formation.

Indonesia has a high biodiversity. Local communities have used plants in traditional medicine practices for centuries. People use the leaves as food ingredients and traditional medicine. For example, the people of Baubau, Southeast Sulawesi, use Chinese betel leaf (*Peperomia pellucida*) to reduce hypertension (Slamet & Andarias, 2018). Flowers are rarely used for medicinal or culinary purposes. Generally, flowers are used as decorations at traditional ceremonies. In this review, we present an ethnobotanical study of the use of edible flowers in Indonesia and their potential development as antibiofilm agents. We summarised research articles published over the past ten years from various databases, i.e., Scopus, PubMed, Google Scholar, and Neliti. The results showed that only a few publications have reported on the use of edible flowers by local communities.

2. Ethnobotany of edible flowers by local communities in Indonesia

Local communities in Indonesia have long used various flowering plants for traditional ceremonial purposes, aesthetics, cooking ingredients, and medicine. Only a few types of flowers are utilized as food ingredients or edible flowers (Table 1). However, the edible flowers used by local communities are very diverse. In this review, there are 25 types of edible flowers from 19 families, including Fabaceae, Musaceae, Myrtaceae, Zingiberaceae, Schisandraceae, Cariceae, Lamiaceae, Brassicaceae, Malvaceae, Poaceae, Arecaceae, Oleaceae, Asteraceae, Asteraceae, Cucurbitaceae, Punicaceae, Verbenaceae, Gnetaceae, Annonaceae, and Myristicaceae.

Edible flowers can be grown or harvested naturally. They are also often cultivated in private gardens, terraces, and balconies, making them a conveniently accessible source in small or limited spaces. Some edible flowers can be utilized as cooking ingredients, such as *Sesbania grandiflora*, *Musa paradisiaca*, *Carica papaya*, *Brassica oleracea*, *Saccharum edule*, and *Gnetum gnemon*. Some species of edible flowers are used as cooking spices, including *Etlingera elatior*, *Syzygium aromaticum*, *Illicium verum*, *Ocimum basilicum*, and *Hornstedtia scyphifera* var. *Fusififormis* (Table 1).

3. Potential of edible flowers as antibiofilm agents

The potential of bioactive compounds from edible flowers against biofilm formation is a topic of growing interest. Plant bioactive compounds, such as alkaloids, saponins, flavonoids,

Table 1. Ethnobotanical study of edible flower utilization by local communities in Indonesia.

Local name	Scientific name	Family	Uses	References
Bunga turi	<i>Sesbania grandiflora</i>	Fabaceae	cooking ingredients	(Setiawan, 2017, 2018; Umartani & Nahdi, 2021)
Bunga pisang	<i>Musa paradisiaca</i>	Musaceae	cooking ingredients	(Agesti et al., 2023; Mukhoyyaroh & Hakim, 2020; Sholekha et al., 2023; Zen et al., 2022)
Bunga telang	<i>Clitoria ternatea</i>	Fabaceae	tea	(Haryanti et al., 2015; Tabeo et al., 2019; Zen et al., 2022)
Bunga lawang	<i>Illicium verum</i>	Schisandraceae	cooking spices	(Zen et al., 2022)
Bunga pepaya	<i>Carica papaya</i>	Cariceae	cooking ingredients	(Agesti et al., 2023; Cahyaningsih et al., 2022; Daeli, 2023; Zen et al., 2022)
Bunga kelapa	<i>Cocos nucifera</i>	Arecaceae	traditional medicine: fever	(Sholekha et al., 2023; Slamet & Andarias, 2018)
Bunga kol	<i>Brassica oleracea</i>	Brassicaceae	cooking ingredients	(Silalahi & Nisyawati, 2018; Zen et al., 2022)
Bunga rosela	<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Malvaceae	traditional medicine - anticancer	(Rizal et al., 2021; Zen et al., 2022)
Bunga pala	<i>Myristica fragrans</i>	Myristicaceae	cooking spices	(Zen et al., 2022)
Bunga melinjo	<i>Gnetum gnemon</i>	Gnetaceae	cooking ingredients	(Umartani & Nahdi, 2021; Zen et al., 2022)
Bunga simanih kuning	<i>Cassia fistula</i>	Fabaceae	cooking ingredients	(Agesti et al., 2023)
Bunga si jangkang	<i>Hornstedtia scyphifera</i> var. <i>fusiformis</i>	Zingiberaceae	cooking spices	(Agesti et al., 2023)
Bunga cengkeh	<i>Syzygium aromaticum</i>	Myrtaceae	cooking spices	(Agesti et al., 2023; Sholekha et al., 2023; Zen et al., 2022)

Table 1. Ethnobotanical study of edible flower utilization by local communities in Indonesia (*Continued*).

Local name	Scientific name	Family	Uses	References
Bunga sawi	<i>Brassica rapa</i>	Brassicaceae	cooking ingredients	(Silalahi & Nisyawati, 2018; Zen et al., 2022)
Bunga kenanga	<i>Cananga odorata</i>	Annonaceae	traditional medicine: stomachache and malaria	(Reynaldi et al., 2019)
Bunga tebu telur	<i>Saccharum edule</i>	Poaceae	cooking ingredients	(Agesti et al., 2023)
Bunga ren	<i>Arenga pinata</i>	Arecaceae	cooking ingredients	(Agesti et al., 2023; Sholekha et al., 2023)
Bunga melati	<i>Jasminum sambac</i>	Oleaceae	traditional medicine: fever	(R. T. Ningsih et al., 2016; Slamet & Andarias, 2018; Zen et al., 2022)
Bunga merak	<i>Caesalpinia pulcherrima</i>	Fabaceae	traditional medicine: fever	(R. T. Ningsih et al., 2016)
Bunga kemangi	<i>Ocimum basilicum</i>	Lamiaceae	cooking spices	(Cahyaningsih et al., 2022; Zen et al., 2022)
Bunga sembung	<i>Blumea balsamifera</i>	Asteraceae	traditional medicine: respiratory tract infections	(Sholekha et al., 2023)
Bunga pare	<i>Momordica charantia</i>	Cucurbitaceae	traditional medicine: stomachache	(Slamet & Andarias, 2018)
Bunga delima	<i>Punica granatum</i>	Punicaceae	traditional medicine: gingivitis	(Slamet & Andarias, 2018)
Bunga lantana	<i>Lantana camara</i>	Verbenaceae	traditional medicine: respiratory tract infections	(Slamet & Andarias, 2018)
Bunga kecombrang	<i>Etlingera elatior</i>	Zingiberaceae	cooking ingredients	(Agesti et al., 2023; Cahyaningsih et al., 2022; Sartika et al., 2021; Sholekha et al., 2023; Silalahi et al., 2018; Silalahi & Nisyawati, 2018; Zen et al., 2022)

terpenoids, and steroids, have received considerable attention due to their diverse pharmacological properties (Table 2). These compounds have been found to possess significant biological and functional values. At the time of writing, there is a lack of direct research specifically addressing the potential of bioactive compounds from edible flowers against biofilm formation. However, the presence of bioactive compounds with antimicrobial properties in edible flowers suggests that they may have the potential to inhibit biofilm formation.

The antimicrobial properties of many natural compounds isolated from edible flowers in Indonesia have been reported. Nature has always been a great contributor to this pharmacological goal. However, not all edible flowers have been studied for their antibiofilm activities. Antibiofilm activity testing was studied on many edible flowers, ranging from their extracts to oils. The bioactive compounds show antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria, including *Acinetobacter baumannii*, *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Porphyromonas gingivalis*, and *Treponema denticola*.

The ongoing endeavor to discover novel antibacterial compounds involves the systematic screening of plant extracts for antimicrobial activity. This review highlighted that people also use edible flowers in traditional medicine practices, including *Hibiscus sabdariffa*, *Jasminum sambac*, *Caesalpinia pulcherrima*, *Punica granatum*, *Blumea balsamifera*, and *Lantana camara* (Figure 1). Practitioners use flowers to lower fever and treat gingivitis, abdominal pain, respiratory infections, and malaria drugs (Table 2). However, no published data exists on the antimicrobial activity of bioactive compounds from *Blumea balsamifera*.

Hibiscus sabdariffa belongs to the Malvaceae family and is commonly found in the tropics and subtropics. It has many beneficial uses, including food flavorings, the food industry, drinks, and herbal medicine. *H. sabdariffa* has abundant phytochemical compounds, such as flavonoids, alkaloids, phenols, triterpenoids, saponins, glycosides, and tannins. *H. sabdariffa* has antibacterial and antibiofilm activities against Gram-positive and Gram-negative bacteria. Petal extract of *H. sabdariffa* inhibited *S. mutans* in Hard-Candy products with 8.43 mm inhibition zone; therefore, the extract potentially prevents dental plaque (Kustyawati et al., 2022).

Jasminum sambac belongs to the Oleaceae family. The methanol and chloroform extracts of *J. sambac* flowers have antibacterial action against foodborne pathogens, such as *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *S. flexneri*, *S. enterica* serovar *typhi*, *S. aureus*, and *E. coli*. The phytochemical study showed the presence of alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, proteins, amino acids, and phenolic compounds. The MIC value of methanol and chloroform extracts of *J. sambac* against *L. monocytogenes*, *S. typhi*, and *B. cereus* was 62.5 µg/mL. Meanwhile, the extracts had MIC values of 125 µg/mL against *S. aureus* and *E. coli* and 250 µg/mL against *S. flexneri* (Senbagam et al., 2016).

Caesalpinia pulcherrima, or bunga merak, belongs to the Fabaceae family and was reported to have antimicrobial activity. Mustapa and Tomoni (2016) studied the bioactivity of *C. pulcherrima* against *S. aureus* and *E. coli*. The phytochemical screening shows that the flower contains flavonoids and saponins. The ethanol extract of *C. pulcherrima* flowers produces robust antimicrobial activity, i.e., 20.6 mm inhibition zone against *S. aureus* and 18 mm against *E. coli*.

Punica granatum, commonly referred to as delima or pomegranate, belongs to the Punicaceae family. *P. granatum* is an abundant potential herbal medicine for various conditions, such as cancer, cardiovascular diseases, diabetes, dental issues, and bacterial infections. The therapeutic components of the plant encompass its flowers, bark, fruits, roots, and seeds (Ökmen et al., 2023). The flowers are employed for treating bronchitis, diarrhea, and bloody diarrhea. Meanwhile, its tisane is employed to address throat and mouth inflammation. Pomegranate flowers are recognized for their diverse secondary metabolites, including polyphenols like gallic acid, ellagic acid, and ethyl brevetoxin-carboxylate. The extract of pomegranate flowers significantly decreased the formation of bacterial biofilm on the orthodontic wire by various strains, including *S. sanguinis* ATCC 10556 by 93.7-100%, *S. sobrinus* ATCC 27607 by 40.6-99.9%, *S. salivarius* ATCC 9222 by 85.2-86.5%, *S. mutans* ATCC 35608 by 66-84.4%, and *E. faecalis* CIP 55142 by 35.5-56.3% (Dastjerdi et al., 2014).

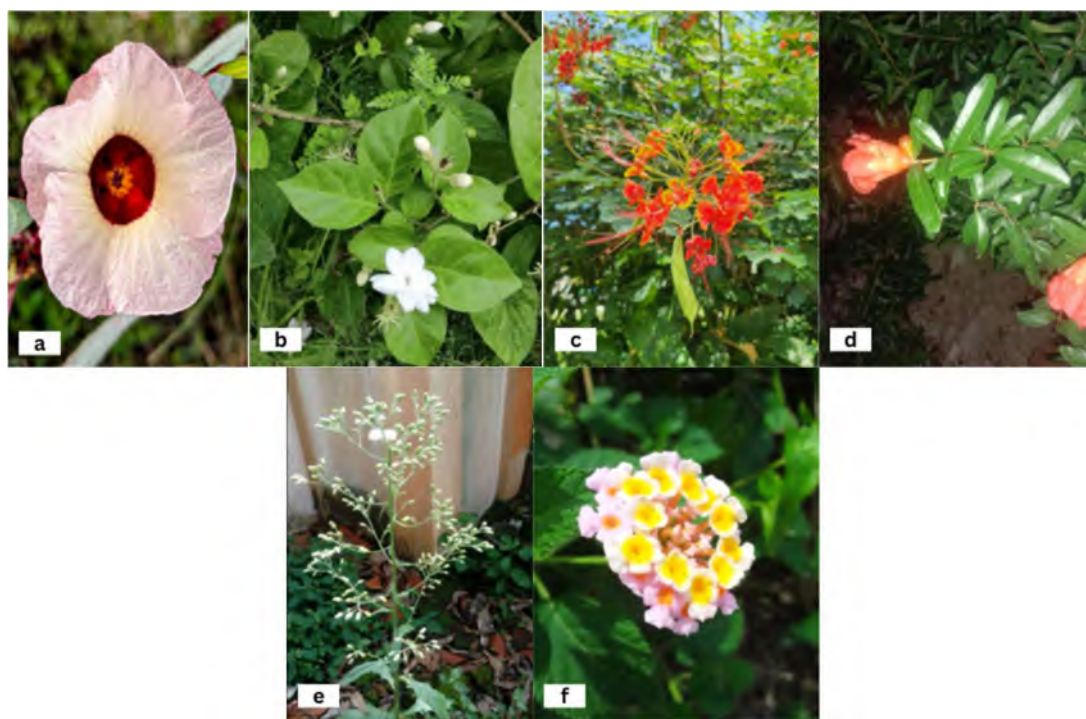


Figure 1. Local communities also use edible flowers in traditional medicine practices, including (a) *Hibiscus sabdariffa*; (b) *Jasminum sambac*; (c) *Caesalpinia pulcherrima*; (d) *Punica granatum*; (e) *Blumea balsamifera*; (f) *Lantana camara* (Source: iNaturalist, 2024)

Table 2. Potential bioactive compounds of edible flowers as antibiofilm agents. *Description:* No data (ND), Minimum inhibitory concentration (MIC), Minimum bactericidal concentration (MBC).

Edible Flowers	Bioactive	Target Bacteria	Activities	Notes	References
<i>Sesbania grandiflora</i>	Tannins, alkaloids	<i>Vibrio cholerae</i>	MIC = 0.98 mg/mL	Antibiofilm	(Guzman et al., 2018)
<i>Musa paradisiaca</i>	Alkaloids, saponins, tannins, flavonoids	<i>Staphylococcus aureus</i>	Inhibitory zone = 20.39 mm	Antimicrobe	(A. P. Ningsih et al., 2013)
	Alkaloids, saponins, tannins, flavonoids	<i>Escherichia coli</i>	Inhibitory zone = 18.96 mm	Antimicrobe	(A. P. Ningsih et al., 2013)
<i>Clitoria ternatea</i>	Flavonoid, saponin, tannin, alkaloid, terpenoid	<i>Staphylococcus aureus</i>	3.41 ppm	Antibiofilm	(Besan et al., 2023)
	Tannin, flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, and terpenoid	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	OD $\geq$ 6.00	Antibiofilm	(Widyarman et al., 2018)
<i>Syzygium aromaticum</i>	Eugenol, caryophyllene, and 2-(octadecyloxy)-ethanol	<i>Staphylococcus aureus</i>	MIC = 1.25 μ L/mL MBC = 2.5 μ L/mL	Antibiofilm	(Alanazi et al., 2022)
<i>Etlingera elatior</i>	Dodecanal, 1-dodecanol, and α -pinene	<i>Acinetobacter baumannii</i>	80% inhibition at an oil concentration of 0.7%	Antibiofilm	(Naushad et al., 2022)
<i>Punica granatum</i>	Polyphenols (including gallic acid), ellagic acid, and ethyl brevifolin-carboxylate.	<i>Streptococcus sanguinis</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	40.6-100% reduction	Antibiofilm	(Dastjerdi et al., 2014; Ökmen et al., 2023)
<i>Illicium verum</i>	Flavone compound (5,7-dihydroxy-3-phenylchromen-4-one)	<i>Escherichia coli</i>	Inhibitory zone = 19 mm	Antimicrobe	(Joicy et al., 2021)
<i>Ocimum basilicum</i>	Fatty acids, phospholipids, phytosterols, carotenoid pigments and essential oils	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC-25923	MIC = 0.125 μ g/mL	Antimicrobe	(Bobakulov et al., 2020; Yibeltal et al., 2022)

Table 2. Potential bioactive compounds of edible flowers as antibiofilm agents. *Description:* No data (ND), Minimum inhibitory concentration (MIC), Minimum bactericidal concentration (MBC) (*Continued*).

Edible Flowers	Bioactive	Target Bacteria	Activities	Notes	References
<i>Carica papaya</i>	Flavonoids and polyphenols	<i>Escherichia coli</i>	Inhibitory zone = 15 mm	Antimicrobe	(Chandra et al., 2023)
	Flavonoids and polyphenols	<i>Staphylococcus aureus</i>	Inhibitory zone = 14 mm	Antimicrobe	(Chandra et al., 2023)
<i>Lantana camara</i>	Alkaloids, glycosides, saponins, steroids, terpenoids, carbohydrates, flavonoids, and coumarins	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>Proteus</i> spp.	Inhibitory zone = 8-18 mm	Antimicrobe	(Hussein, 2023)
	Flavonoid, tannin, phenolic, saponin	<i>Streptococcus mutans</i>	Inhibitory zone = 8.43 mm	Antimicrobe	(Kustyawati et al., 2022)
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Alkaloid, flavonoid, saponin	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	74% inhibition	Antibiofilm	(Jaddoa & Ghrab, 2021)
	Alkaloid, saponin, tannin, phenolic, flavonoid, triterpenoid, glycosides	<i>Porphyromonas gingivalis</i> and <i>Treponema denticola</i>	OD = 0.045	Antibiofilm	(Winson et al., 2023)
<i>Brassica oleracea</i>	Glucosinolates	<i>Bacillus cereus</i> ,	74.8% inhibition	Antimicrobe	(Gudiño et al., 2022)
	ND	<i>Staphylococcus aureus</i>	83.4% inhibition	Antimicrobe	(Gudiño et al., 2022)
	ND	<i>Listeria innocua</i>	80.4% inhibition	Antimicrobe	(Gudiño et al., 2022)
<i>Cananga odorata</i>	Trans- and cis-nerolidol	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	80% inhibition	Antibiofilm	(Tan et al., 2015)
<i>Caesalpinia pulcherrima</i>	Flavonoids, saponins	<i>Staphylococcus aureus</i>	Inhibitory zone = 20.6 mm	Antimicrobe	(Mustapa & Tomoni, 2016)
		<i>Escherichia coli</i>	Inhibitory zone = 18 mm		

Table 2. Potential bioactive compounds of edible flowers as antibiofilm agents. *Description:* No data (ND), Minimum inhibitory concentration (MIC), Minimum bactericidal concentration (MBC) (*Continued*).

Edible Flowers	Bioactive	Target Bacteria	Activities	Notes	References
<i>Brassica rapa</i>	Glucosinolates, isothiocyanates, flavonoids, phenylpropanoids, phenolics, indoles, and carbohydrates.	<i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	MIC = 3.12-200 µg/mL	Antimicrobe	(Alotaibi et al., 2021)
<i>Cassia fistula</i>	Alkaloid, saponin, triterpenoid, glycosides, anthraquinone, flavonoid, steroid, phenolic	<i>Staphylococcus aureus</i>	MIC = 40 µg/mL	Antimicrobe	(Seyyednejad et al., 2014)
		<i>Escherichia coli</i>	MIC = 5 µg/mL	Antimicrobe	(Seyyednejad et al., 2014)
		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MIC = 40 µg/mL	Antimicrobe	(Seyyednejad et al., 2014)
		<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibitory zone = 13.8 mm		
<i>Cocos nucifera</i>	Phenolic	<i>Escherichia coli</i> 0157: H7 ATCC 33150	Inhibitory zone = 6.8 mm	Antimicrobe	(Shen et al., 2017)
		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 2392	Inhibitory zone = 12.3 mm		
		<i>Listeria monocytogenes</i>	MIC = 62.5 µg/mL Inhibitory zone = 15 mm		
		<i>Salmonella typhi</i>	MIC = 62.5 µg/mL Inhibitory zone = 16 mm		
<i>Jasminum sambac</i>	Alkaloid, flavonoid, tannin, anthraquinones, phenolic, steroid	<i>Bacillus cereus</i>	MIC = 62.5 µg/mL Inhibitory zone = 16 mm	Antimicrobe	(Senbagam et al., 2016)
		<i>Staphylococcus aureus</i>	MIC = 125 µg/mL Inhibitory zone = 15 mm		
		<i>Escherichia coli</i>	MIC = 125 µg/mL Inhibitory zone = 13 mm		

Lantana flower revealed the ability to impede the growth of both Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Lantana camara* has been recognized as a significant medicinal plant globally, known for various biological activities, including anti-protozoal, anti-inflammatory, antibacterial, and antioxidant properties. The Lantana extracts exhibited moderate to high inhibitory activities against various clinical bacterial isolates, with susceptibility increasing proportionally with extract concentration. Notably, a substantial inhibition zone was observed in *Klebsiella* spp. is 18 mm, followed by *Proteus* spp., *S. aureus*, *A. baumannii*, and *P. aeruginosa*, i.e., 16, 15.5, 14.5, and 15 mm, respectively. This antimicrobial activity is attributed to the presence of bioactive compounds in the extract, including flavonoids, tannins, and phenols (Hussein, 2023).

Biofilms are communities of bacteria that adhere to surfaces encased in a sticky matrix (Figure 2). Biofilm development is a well-defined series of stages, including 1) initial attachment, where free-floating bacteria, called planktonic cells, come into contact with a surface; 2) microcolony formation, where bacteria adhere more firmly to the surface, often through specific interactions with molecules on both the bacteria and the surface. Bacteria start producing an extracellular polymeric substance (EPS), a slimy matrix that helps them stick together and provides protection; 3) maturation, where the EPS matrix creates a complex and protective environment for the biofilm. Bacterial cells within the biofilm differentiate, meaning they take on specialized roles within the community. Communication between bacterial cells increases, allowing them to coordinate activities like nutrient acquisition and defense; and 4) dispersion, where specific signals or environmental conditions trigger the release of some bacteria from the biofilm. These dispersed cells return to the planktonic state and can go on to colonize new surfaces (Besan et al., 2023; Hussein, 2023; Jaddoa & Ghrab, 2021).

The microbial fortresses pose a significant threat, causing chronic infections in medical devices, wounds, and lungs. Traditional antibiotics often falter against biofilms, highlighting the urgent need for new agents. Research increasingly reveals the remarkable ability of flower bioactive compounds to inhibit biofilm formation and even dismantle existing ones. There are some proposed mechanisms of action, including disruption of initial adhesion by tannins, flavonoids, and terpenoids (Besan et al., 2023); disruption of biofilm matrix production by saponins, quinones, and essential oils (Hussein, 2023); and disruption of biofilm matrix or communication between bacteria cells within the biofilm by flavonoids and terpenoids (Jaddoa & Ghrab, 2021).

Several standard methods are used to test the ability of bioactive antibiofilm (Skogman et al., 2016). The in vitro method is widely performed because it is easy. In vitro testing is commonly used to test the antibacterial activity of bioactives against a single bacterium or a mixture of bacteria. In vitro methods include assays for 1) inhibition of biofilm growth, where measure the ability of compounds to inhibit biofilm growth; 2) inhibition of biofilm formation, where measures the ability of compounds to inhibit biofilm formation; and 3) inhibition of biofilm dissemination by measuring the time of biofilm formation or the number of bacteria attached to the surface.

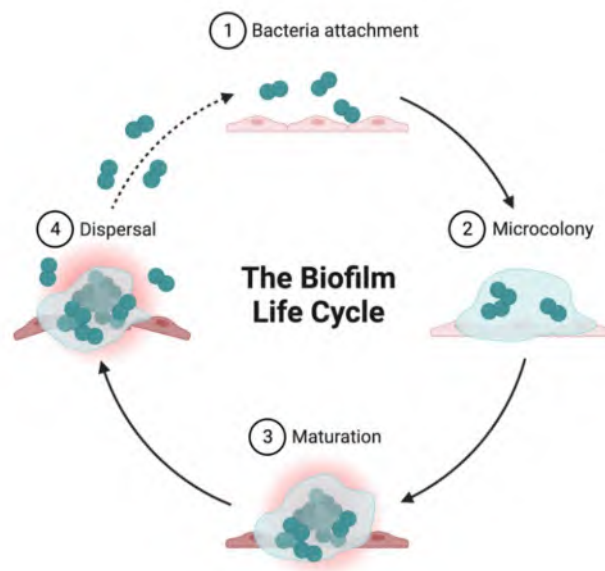


Figure 2. Cycle of biofilm formation and development.

Plants produce a large number of specialized metabolites that have specific roles. Research on floral bioactives against biofilms is still in its early stages, but the potential is immense. Scientists are exploring ways to isolate and purify these compounds, potentially leading to novel biofilm-disrupting drugs. Further research explicitly addressing this potential is warranted to fully understand the role of edible flowers in combating biofilm-related issues. However, harvesting flowers for large-scale production might not be sustainable. Instead, researchers investigate sustainable cultivation methods and even genetically modify plants to enhance their bioactive content. The future may hold flower farms buzzing with bees and teeming with the promise of a future free from biofilm-related infections. Edible flowers could provide a natural alternative to synthetic antibiotics. Natural products can sometimes have fewer side effects and may be better tolerated by the body. Also, it may lead to the developing of new medicines that are more accessible and affordable for local people.

4. CONCLUSION

Given the limited direct evidence, this review provides an overview of the bioactive compounds in edible flowers and their implications for inhibiting biofilm formation. There are 25 types of edible flowers from 19 families in Indonesia. Local communities also use edible flowers in traditional medicine practices, including *Hibiscus sabdariffa*, *Jasminum sambac*, *Caesalpinia pulcherrima*, *Punica granatum*, *Blumea balsamifera*, and *Lantana camara*. The bioactive compounds show antimicrobial activity against various Gram-positive and Gram-negative bacteria. Not all edible flowers in Indonesia have been studied for their antibiofilm activities. The presence of bioactive compounds with antimicrobial properties in edible flowers suggests that they may have the potential as antibiofilm agents.

ACKNOWLEDGMENT

The author thanks the researcher who conducted the previous studies on the ethnobotany of edible flowers and their bioactives.

CONFLICT OF INTEREST

The author declares that there is no conflict of interest in this paper.

REFERENCES

- Agesti, A. R. A., Ariyanti, N. S., Chikmawati, T., & Purwanto, Y. (2023). Ethnobotany of food plants used by Minangkabau Community in Lima Puluh Kota District, West Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 24(5). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d240529>
- Alanazi, A. K., Alqasbi, M. H., Alrouji, M., Kuriri, F. A., Almuhan, Y., Joseph, B., & Asad, M. (2022). Antibacterial Activity of *Syzygium aromaticum* (Clove) Bud Oil and Its Interaction with Imipenem in Controlling Wound Infections in Rats Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 27(23), 8551. <https://doi.org/10.3390/molecules27238551>
- Al-Bayati, M., & Samarasinghe, S. (2022). Biofilm and Gene Expression Characteristics of the Carbapenem-Resistant Enterobacterales, *Escherichia coli* IMP, and *Klebsiella pneumoniae* NDM-1 Associated with Common Bacterial Infections. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(8), 4788. <https://doi.org/10.3390/ijerph19084788>
- Alotaibi, B., Mokhtar, F. A., El-Masry, T. A., Elekhawwy, E., Mostafa, S. A., Abdelkader, D. H., Elharty, M. E., Saleh, A., & Negm, W. A. (2021). Antimicrobial Activity of *Brassica rapa* L. Flowers Extract on Gastrointestinal Tract Infections and Antiulcer Potential Against Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Rats Supported by Metabolomics Profiling. *Journal of Inflammation Research*, Volume 14, 7411–7430. <https://doi.org/10.2147/JIR.S345780>
- Besan, E. J., Rahmawati, I., & Saptarini, O. (2023). Aktivitas Antibiofilm Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 20(1), 1. <https://doi.org/10.30595/pharmacy.v0i0.14437>
- Bobakulov, K., Ozek, G., Ozek, T., Asilbekova, D. T., Abdullaev, N. D., Sagdullaev, S. Sh., & Başer, K. H. C. (2020). Essential oils and lipids from the flowers of two varieties of *Ocimum basilicum* L. cultivated in Uzbekistan. *Journal of Essential Oil Research*, 32(4), 323–330. <https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1749946>
- Cahyaningsih, A. P., Arifiani, K. N., Aprilia, D., Nugroho, M. E., & Setyawan, A. D. (2022). Ethnobotanical study of the non-medicinal plant by village communities in the karst area of Pacitan, East Java, Indonesia. *International Journal of Tropical Drylands*, 6(1). <https://doi.org/10.13057/tropdrylands/t060101>
- Chandra, G. K., Haridas, H., Swaminathan, E., Bhattacharya, S., Kovilakam, R. V. M., Nair, B. G., & Joseph, A. (2023). Phytochemically enriched male papaya flowers: A better green candidate for silver nanoparticle synthesis and exploring its antibacterial potency. *Journal of Medical Pharmaceutical and Allied Sciences*, 12(3), 5796–5802. <https://doi.org/10.55522/jmpas.V12I3.5018>
- Chiang, T.-T., Huang, T.-W., Sun, J.-R., Kuo, S.-C., Cheng, A., Liu, C.-P., Liu, Y.-M., Yang, Y.-S., Chen, T.-L., Lee, Y.-T., & Wang, Y.-C. (2022). Biofilm formation is not an independent risk factor for mortality in patients with *Acinetobacter baumannii*

- bacteremia. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 964539. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.964539>
- Daeli, D. Y. (2023). Studi Etnobotani Tanaman Obat Tradisional Masyarakat di Desa Orahili Kecamatan Sirombu Kabupaten Nias Barat. *TUNAS Jurnal Pendidikan Biologi*, 4(1), 1–16.
- Dastjerdi, E. V., Abdolazimi, Z., Ghazanfarian, M., Amdjadi, P., Kamalinejad, M., & Mahboubi, A. (2014). Effect of Punica granatum L. Flower Water Extract on Five Common Oral Bacteria and Bacterial Biofilm Formation on Orthodontic Wire. *Iranian Journal of Public Health*, 43(12), 1688–1694.
- Gedefie, A., Alemayehu, E., Mohammed, O., Bambo, G. M., Kebede, S. S., & Kebede, B. (2023). Prevalence of biofilm producing *Acinetobacter baumannii* clinical isolates: A systematic review and meta-analysis. *PLOS ONE*, 18(11), e0287211. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0287211>
- Gudiño, I., Martín, A., Casquete, R., Prieto, M. H., Ayuso, M. C., & Córdoba, M. G. (2022). Evaluation of broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*) crop by-products as sources of bioactive compounds. *Scientia Horticulturae*, 304, 111284. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111284>
- Guzman, J., Cortes, A., Neri, K., Cortez, C., & De las Alas, T. (2018). Antibacterial and Antibiofilm Activities of *Sesbania grandiflora* Against Foodborne Pathogen *Vibrio cholerae*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2018.8310>
- Haryanti, E. S., Diba, F., & Wahdina. (2015). Etnobotani Tumbuha Berguna Oleh Masyarakat Sekitar Kawasan KPH Model Kapuas Hulu (Studi Kasus Desa Tamao Kecamatan Embaloh Hulu Kalimantan Barat). *Jurnal Hutan Lestari*, 3(3), 434–445.
- Hussein, L. M. (2023). Antibacterial Activity of *Lantana camara* Flower Extracts Against Growth of Pathogenic Bacteria Isolated from Wounds and Burns Infections. *Academic Science Journal*, 1(3), 25–42. <https://doi.org/10.24237/ASJ.01.03.638B>
- Institute for Health Metrics and Evaluation. (2019). Global Research on Antimicrobial Resistance. *University of Washington*. <https://vizhub.healthdata.org/microbe/>
- Jaddoa, J., & Ghrab, G. (2021). The Antibiofilm Activity of *Hibiscus sabdariffa* L. Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *IRAQI JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCES*, 52(3), 626–631. <https://doi.org/10.36103/ijas.v52i3.1352>
- Joicy, C. M., C, Sivaraj., & P, Arumugam. (2021). In-vitro Antioxidant, Antidiabetic, Antibacterial and Cytotoxic Activities of Essential Oil extracted from Flowers of *Illicium verum* L. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 2452–2458. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2021.00431>
- Kustyawati, M. E., Nurdin, S. U., Larassati, D. P., & Pinalita, A. (2022). Inhibition effect of *Rosella* (*Hibiscus sabdariffa* L.) petal extract in Hard-Candy against *Streptococcus mutans*. *Canrea Journal: Food Technology, Nutritions, and Culinary Journal*, 127–138. <https://doi.org/10.20956/canrea.v5i2.597>
- Mukhooyaroh, N. I., & Hakim, L. (2020). Etnobotani Pemanfaatan Pisang (*Musa* sp.) Lokal di Desa Srigonco, Kecamatan Bantur, Kabupaten Malang. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 8(1), 43–53. <https://doi.org/10.21776/ub.biotropika.2020.008.01.07>
- Mustapa, M. A., & Tomoni, N. R. (2016). Bunga Kembang Merak (*Caesalpinia pulcherrima* (L.) Swartz) sebagai Antibakteri. *SAINSTEK Jurnal Ilmiah Matematika, Sains Teknologi, Dan Terapan*, 8(4), 344–353.
- Naushad, T., Türetgen, I., Salim, S., & Sugathan, S. (2022). An In-vitro Study into the Inhibitory Effects of *Etlingera elatior* Flower Oil on *Acinetobacter baumannii* Biofilms [Preprint]. *BIOLOGY*. <https://doi.org/10.20944/preprints202209.0191.v1>

- Ningsih, A. P., Nurmianti, & Agustien, A. (2013). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kental Tanaman Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 2(3), 207–213.
- Ningsih, R. T., Gunawan, G., & Pujawati, E. D. (2016). Kajian Pemanfaatan Tumbuhan Bunga pada Masyarakat Suku Banjar di Kecamatan Karang Intan Kalimantan Selatan. *BIOSCIENTIAE*, 13(1), 37–45.
- Ökmen, G., Giannetto, D., Fazio, F., & Arslan, K. (2023). Investigation of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Flowers' Antioxidant Properties and Antibacterial Activities against Different *Staphylococcus* Species Associated with Bovine Mastitis. *Veterinary Sciences*, 10(6), 394. <https://doi.org/10.3390/vetsci10060394>
- Reynaldi, Rahmadi, A., & Aryyati, H. (2019). Etnobotani Tanaman Obat Oleh Masyarakat Dayak Bakumpai di Desa Muara Ripung Kecamatan Dusun Selatan Kabupaten Barito Selatan Provinsi Kalimantan Tengah. *Jurnal Sylva Scientiae*, 2(6), 1044–1052.
- Rizal, S., Kartika, T., & Septia, G. A. (2021). Studi Etnobotani Tumbuhan Obat di Desa Pagar Ruyung Kecamatan Kota Agung Kabupaten Lahat Sumatera Selatan. *Sainmatika: Jurnal Ilmiah Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 18(2), 222. <https://doi.org/10.31851/sainmatika.v18i2.6618>
- Salam, Md. A., Al-Amin, Md. Y., Salam, M. T., Pawar, J. S., Akhter, N., Rabaan, A. A., & Alqumber, M. A. A. (2023). Antimicrobial Resistance: A Growing Serious Threat for Global Public Health. *Healthcare*, 11(13), 1946. <https://doi.org/10.3390/healthcare11131946>
- Sartika, Umam, A. H., & Iqbar. (2021). Studi Etnobotani Tumbuhan Hutan Sebagai Bahan Pangan (Studi Kasus Kecamatan Terangun Kabupaten Gayo Lues). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 6(4), 966–973.
- Senbagam, D., Senthilkumar, B., Amutha, R., Arunt, Nagarajan, G., & Kalandar, A. (2016). Phytotherapeutic Control of Foodborne Pathogens by *Jasminum sambac* L. Flower. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(3), 188–193.
- Setiawan, E. (2017). Studi Etnobotani Pemanfaatan Tanaman Sayuran di Kabupaten Pamekasan. *Jurnal Ilmiah Rekayasa*, 10(1), 1–8.
- Setiawan, E. (2018). Kandungan Flavonoid dan Serat *Sesbania grandiflora* pada Berbagai Umur Bunga dan Polong. *Jurnal Hortikultura Indonesia*, 9(2), 122–130. <https://doi.org/10.29244/jhi.9.2.122-130>
- Seyyednejad, S. M., Motamedi, H., Vafei, M., & Bakhtiari, A. (2014). The Antibacterial Activity of *Cassia fistula* Organic Extracts. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 7(1). <https://doi.org/10.5812/jjm.8921>
- Shen, X., Chen, W., Zheng, Y., Lei, X., Tang, M., Wang, H., & Song, F. (2017). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of hydrosols from different parts of *Areca catechu* L. and *Cocos nucifera* L. *Industrial Crops and Products*, 96, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.11.053>
- Sholekha, A. M., Yulia, I. T., Hanun, Z., Perwitasari, I. G., Cahyaningsih, A. P., Sunarto, S., Sutarno, S., Buot, I. E. Jr., & Setyawan, A. D. (2023). Local knowledge and the utilization of non-medicinal plants in home garden by the people of Donorejo Village in the Menoreh Karst Area, Purworejo, Central Java, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 24(1). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d240173>
- Silalahi, M., Nisyawati, & Anggraeni, R. (2018). Studi Etnobotani Tumbuhan Pangan yang Tidak Dibudidayakan oleh Masyarakat Lokal Sub-etnis Batak Toba, di Desa Peadungdung Sumatera Utara, Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam Dan Lingkungan*, 8(2), 241–250. <https://www.doi.org/10.29244/jpsl.8.2.241-250>
- Silalahi, M., & Nisyawati, N. (2018). The ethnobotanical study of edible and medicinal plants in the home garden of Batak Karo sub-ethnic in North Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas*

- Journal of Biological Diversity*, 19(1), 229–238.
<https://doi.org/10.13057/biodiv/d190131>
- Skogman, M. E., Vuorela, P. M., & Fallarero, A. (2016). A Platform of Anti-biofilm Assays Suited to the Exploration of Natural Compound Libraries. *Journal of Visualized Experiments*, 118, 54829. <https://doi.org/10.3791/54829>
- Slamet, A., & Andarias, S. H. (2018). Studi Etnobotani dan Identifikasi Tumbuhan Berkhasiat Obat Masyarakat Sub Etnis Wolio Kota Baubau Sulawesi Tenggara. *Proceeding Biology Education Conference*, 15, 721–732.
- Tabeo, D. F., Ibrahim, N., & Nugrahani, A. W. (2019). Etnobotani Suku Togian di Pulau Malenge Kecamatan Talatako, Kabupaten Tojo Una-Una, Sulawesi Tengah. *Biocelbes*, 13(1), 30–38.
- Tan, L. T. H., Lee, L. H., Yin, W. F., Chan, C. K., Abdul Kadir, H., Chan, K. G., & Goh, B. H. (2015). Traditional Uses, Phytochemistry, and Bioactivities of *Cananga odorata* (Ylang-Ylang). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1–30. <https://doi.org/10.1155/2015/896314>
- Umartani, L. A., & Nahdi, M. S. (2021). Ethnobotanical Study of Edible Plant Communities on the Slopes of Mount Merapi and Merbabu, Indonesia. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*, 10(1), 33–39. <https://doi.org/10.14421/biomedich.2021.101.33-39>
- Widyarman, A. S., Sumadi, S., & Agustin, T. P. (2018). Antibiofilm Effect of Clitoria ternatea Flower Juice on Porphyromonas gingivalis in vitro. *Journal of Indonesian Dental Association*, 1(1). <https://doi.org/10.32793/jida.v1i1.288>
- Winson, A., Suwandi, T., & Komala, O. (2023). Effects of Hibiscus sabdariffa L. extract on multispecies Porphyromonas gingivalis and Treponema denticola biofilms in vitro. *Scientific Dental Journal*, 7(1), 26. https://doi.org/10.4103/SDJ.SDJ_4_23
- Yibeltal, G., Yusuf, Z., & Desta, M. (2022). Physicochemical Properties, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Ethiopian Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) Leaf and Flower Oil Extracts. *Recent Advances in Anti-Infective Drug Discovery*, 17(2), 131–138. <https://doi.org/10.2174/2772434417666220720121051>
- Zen, S., Kamelia, M., Noor, R., & Asih, T. (2022). Etnobotani Tumbuhan yang Berpotensi sebagai Edible Flower di Desa Bangunrejo, Kabupaten Tanggamus Lampung. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan IPA 2022*, 87–98.

Therapeutic Potential of Bovine Lactoferrin to Reduce Brain Malondialdehyde Levels in Hyperlipidemia-Induced Sprague-Dawley Rats

Havian Daulung Telium¹, Tena Djuartina², Dion Notario³ and Linawati Hananta^{4*}

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

²Department of Anatomy, Master Program in Biomedical Sciences, School of Medicine and Health Sciences, Atma Jaya Catholic University of Indonesia, Jakarta, Indonesia

³Department of Pharmacy, School of Medicine and Health Sciences, Atma Jaya Catholic University of Indonesia, Jakarta, Indonesia

⁴Department of Pharmacology, School of Medicine and Health Sciences, Atma Jaya Catholic University of Indonesia, Jakarta, Indonesia

*Corresponding author: linawati.hananta@atmajaya.ac.id

Received: March 6, 2023; **Accepted:** October 24, 2024; **Published:** November 15, 2024

Abstract

Hyperlipidemia is a medical condition that can trigger various diseases, one of which is a neurodegenerative or neurological disease. Lactoferrin is known to have multiple protective activities, one of which is antioxidant. This study aimed to determine the potential of lactoferrin bovine to decrease brain MDA levels in Sprague-Dawley (SD) rats induced by hyperlipidemia. This study was an in vivo experimental study using 24 male SD rats divided into six groups: normal, negative control, positive control, low-dose bovine lactoferrin (LLF), intermediate-dose bovine lactoferrin (ILF), and high-dose bovine lactoferrin (HLF). The diet in the normal group was the standard diet, and the other groups were induced by a high-fat diet (HFD). The intervention for the positive control group was simvastatin. In contrast, LLF, ILF, and HLF groups were given bovine lactoferrin doses of 100, 200, and 400 mg/kg BW, respectively. After seven weeks, all rats were necropsied, and their brains were taken to be tested for malondialdehyde (MDA) levels with an MDA assay kit using a spectrophotometer. Data was then analyzed using the Shapiro-Wilk and Levene test, which was continued with one-way ANOVA and post-hoc Tukey test. There were significant differences ($p < 0.05$) between the negative control group (269.99 ± 13.50 nmol/g weight) and every bovine lactoferrin group (219.92 ± 22.99 nmol/g weight, 151.60 ± 23.43 nmol/g weight, 158.16 ± 12.33 nmol/g weight, respectively) in reducing brain MDA levels. In summary, all bovine lactoferrin groups (100, 200, and 400 mg/kgBW) significantly reduced brain MDA levels of SD rats in hyperlipidemia conditions.

Keywords: Bovine lactoferrin; Brain MDA; Hyperlipidemia; Lipid peroxidation

1. INTRODUCTION

Hyperlipidemia is one of the conditions that need attention and caution. Based on Indonesia Basic Health Research in 2018, data on the population in Indonesia aged ≥ 15 years with a high proportion of total cholesterol levels (≥ 240 mg/dl) was 7.6%, low HDL (high-density lipoprotein) levels (< 40 mg/dl) was 24.3%, high LDL (low-density lipoprotein) levels

(160-189 mg/dl) was 9.0%, and high triglyceride levels (200-499 mg/dl) was 13.8% (National Institute of Health Research and Development Indonesian Ministry of Health, 2018). Hyperlipidemia is characterized by increased serum total cholesterol, LDL, triglyceride, or even a decrease in HDL levels (Nelson, 2013; Yang et al., 2017). Currently, statin (HMG-CoA reductase inhibitor) is recommended as the first-line treatment in most hyperlipidemia patients (Grundy et al., 2019). However, taking a statin cannot be separated from the side effects, such as rhabdomyolysis, diarrhea, myopathy, hepatotoxicity, and increased risk of diabetes (Pinal-Fernandez et al., 2018).

High cholesterol and increased free cholesterol levels induce oxidative stress, forming reactive oxygen species (ROS) (Amiya, 2016; Dias et al., 2014). In addition, the structure of the lipid raft, which is part of the cell membrane, will also be disturbed (Amiya, 2016). The continuous increase in intracellular ROS levels will cause the formation of oxidative stress, disrupting the body's cellular working mechanism (Forrester et al., 2018; Rodwell et al., 2015). Oxidative stress in hyperlipidemia can cause disturbances and damage various body organs, such as the heart, liver, kidneys, and brain (Chan et al., 2015; Shichiri, 2014). Oxidative stress plays a role in developing various diseases, including neurodegenerative or neurological diseases, such as Alzheimer's, Parkinson's, Huntington's, and multiple sclerosis (Phaniendra et al., 2015; Pizzino et al., 2017). The brain is the central nervous system (CNS), which is very sensitive to oxidants due to the brain's high lipid content and oxygen demand, as well as low antioxidant levels (Phaniendra et al., 2015). Some brain parts, like the hippocampus, prefrontal cortex, substantia nigra, and corpus striatum, are sensitive to free radicals (Phaniendra et al., 2015; Zlatković et al., 2014).

ROS resulted in the formation of lipid peroxidation in cell membranes (Ayala et al., 2014). Lipid peroxidation is a chain reaction due to the continuous formation of ROS/free radicals that can potentially cause damage (Rodwell et al., 2015). Lipid peroxidation is formed by an interaction between free radicals and polyunsaturated fatty acids, especially in phospholipid membranes susceptible to free radicals (Catalá & Díaz, 2016). Malondialdehyde (MDA) is a secondary product of lipid peroxidation and has relatively stable properties, so it is often used as a biomarker for lipid peroxidation. MDA reacts with thiobarbituric acid (TBA) to produce a pink chromogen (Ayala et al., 2014).

Antioxidants can reduce or control lipid peroxidation levels (Rodwell et al., 2015). Antioxidant activity can be found in lactoferrin (or lactotransferrin). Lactoferrin (Lf) is an iron-binding glycoprotein with a molecular weight of about 80 kDa capable of binding two Fe^{3+} to prevent the effects of oxidative stress. Lf can be found in cow's milk, neutrophil granules, or secreted from the human body, such as colostrum, tears, saliva, genital secretion, and urine (Kell et al., 2020; Superti, 2020).

Many studies have been carried out to assess the activity of various health markers, such as in reducing blood total cholesterol and triglyceride levels (Jusni et al., 2022), serum 8-isoprostane level (Faridvand et al., 2017), serum and liver MDA levels (Chen et al., 2016), and serum homocysteine and leptin levels (Nozari et al., 2018), as well as its ability to increase

serum Paraoxonase1 level (Faridvand et al., 2017). These studies have highlighted the antioxidant and anti-inflammatory properties of Lf. Unfortunately, there was a lack of research on the effects of Lf on brain MDA levels. Therefore, this study aimed to determine the potential of bovine lactoferrin (bLf) in reducing brain MDA levels of male Sprague-Dawley (SD) rats in hyperlipidemia conditions. The findings of this study could suggest that Lf may serve as an alternative treatment for hyperlipidemia with minimal side effects and easy accessibility.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Ethical clearance

The experiment was conducted after approval by the Chairman of the Ethical Clearance Commission of the School of Medicine and Health Sciences Atma Jaya Catholic University of Indonesia (protocol number: 07/11/KEP-FKIKUAI/2021), and all procedures have complied with international standards for animal experimentation.

2.2. Research design

This experimental animal study was conducted at the Biochemistry and Pharmacology Laboratory and Animal House School of Medicine Atma Jaya Catholic University of Indonesia, Jakarta.

2.3. Sample size determination

The total number of rats used in this study was determined using the formula by Charan and Khantaria (2013), i.e., $E = \text{total number of animals} - \text{total number of groups}$. E is considered adequate between 10-20. A total of 24 rats were used in this study, comprising six groups. Thus, the E value is 18, which is considered adequate for this study.

2.4. Study subjects

The subjects used for this experimental study were Sprague-Dawley (SD) rats aged five weeks, weighing 150-200 g, and obtained from the Indonesian Food and Drug Administration Laboratory Service. A total of 24 (n=24) male SD rats were randomly divided into six experimental groups, each consisting of four (n=4) SD rats. One rat (n=1) is added as a reserve in each group to prevent dropout. Thus, there were 30 (n=30) SD rats in this study. The first group (normal group) was fed a standard rat diet. The second group (negative control/NC) was fed with a high-fat diet (HFD) containing 15% sucrose, 5% cow's fat, and 80% quail egg yolk at a dose equivalent to 1.5 g/150 g body weight (BW) per day and addition of 0.01% propylthiouracil (PTU). The third group (positive control/PC) was given HFD, PTU, and 1.5 mg/150 gBW simvastatin. The fourth (low-dose bovine lactoferrin/LLF), fifth (intermediate-dose bovine lactoferrin/ILF), and sixth (high-dose bovine lactoferrin/HLF) group were given HFD, PTU, and bLf doses of 100, 200, and 400 mg/kg BW, respectively. Bovine lactoferrin (bLf) was purchased from Xi'an Ruisaen Biotechnology Co., Ltd., as pinkish-white crystals slightly soluble in water with 99% purity (RSN201119). All rats were also given drinking water ad libitum and were acclimatized for five days before being treated. NC, PC, LLF, ILF, and

HLF group rats were induced with HFD and PTU for 23 days to achieve hyperlipidemia. Then, they proceeded with intervention (simvastatin or bLf) for 26 days based on the provisions of each group. Meanwhile, the normal group is given a standard rat diet for seven weeks (49 days).

2.5. Measurements and laboratory analysis

After seven weeks of research, four rats ($n=4$) from each group were necropsied to obtain the rat's prefrontal cortex part of the brain to be tested for malondialdehyde (MDA) levels using the MDA Assay Kit. MDA Assay Kit was obtained from Beijing Solarbio Science and Technology. The components of the MDA Assay Kit were extraction reagent (liquid 50 mL $\times$ 1), reagent I (liquid 30 mL $\times$ 1), reagent II (Powder $\times$ 2), MDA working reagent (add 15 mL of reagent I to reagent II and dissolve by heating at 70°C and mix thoroughly), and reagent III (liquid 10 mL $\times$ 1).

Before being necropsied, the rats were anesthetized by intramuscular injection with ketamine/xylazine. The brains taken were washed in ice-cold 0.9% NaCl, wiped with a paper filter, and obtained the prefrontal cortex part weighing 0.1 g. The weighted brain was mixed with 1 mL of extraction reagent to be homogenized on an ice bath and then centrifuged at 8000 $\times$ g for 10 minutes at 4°C using a Nüve NF 800R centrifuge to obtain the supernatant. There were two kinds of tubes used for testing in the spectrophotometer, namely test tube (mixture of 200 μ L sample supernatant, 600 μ L MDA working reagent, and 200 μ L reagent III) and blank tube (mixture of 200 μ L distilled water, 600 μ L MDA working reagent, and 200 μ L reagent III). The mixture was then incubated at 100°C for 60 minutes. Next, a centrifuge was done at 10.000 $\times$ g for 10 minutes at room temperature to remove insoluble materials. Finally, using a Shimadzu UV-1900i spectrophotometer, we collected 200 μ L of supernatant in a 1 mL glass cuvette to measure the absorbance at 450, 532, and 600 nm. The MDA calculation formula (nmol/g weight) follows what is stated in the MDA assay kit.

2.6. Statistical analysis

SPSS software version 23 was used for statistical analysis, and R-4.2.2 was used for diagram visualization. Data results are presented as mean $\pm$ SD. In this study, parametric assumptions, including normality (Shapiro-Wilk) and homogeneity (Levene) test, were satisfied ($p>0.05$). Thus, a parametric test was established using a one-way analysis of variance (ANOVA) test for statistical significance analysis among the group means. The Tukey posthoc test assessed the significance of differences between groups. In all instances, a p-value less than 0.05 ($p<0.05$) was considered statistically significant.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Results

This study showed that the ILF group had the lowest average brain MDA level, while the NC group had the highest brain MDA level. The result of the ANOVA test in this study showed significant differences between groups ($p<0.05$), so it could be continued with Tukey's post-hoc test (Figure 1).

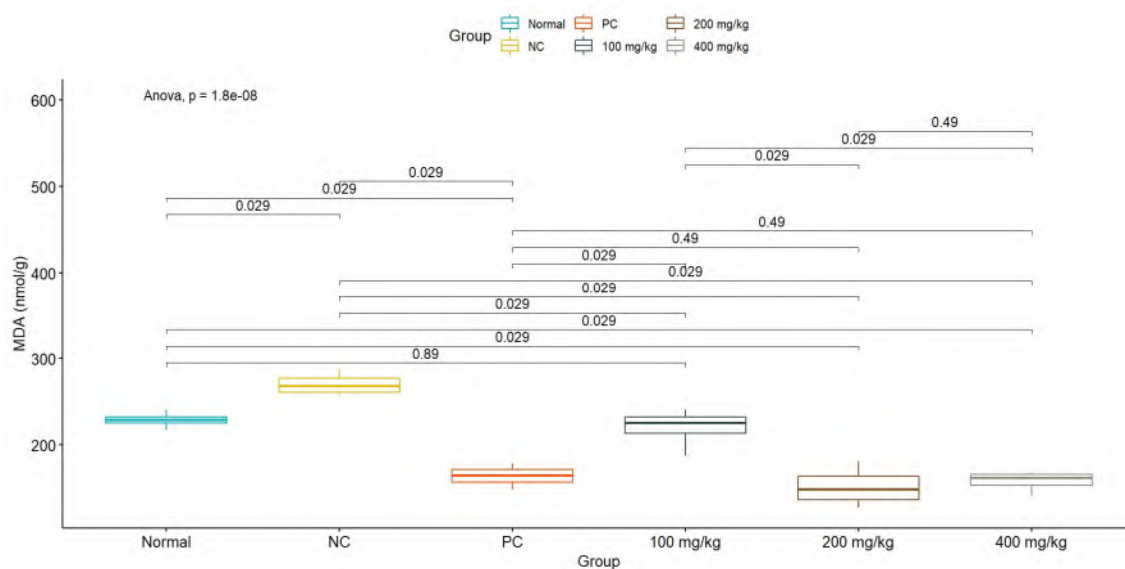


Figure 1. ANOVA and Tukey's post-hoc test result on brain MDA levels in male Sprague-Dawley rats brain (prefrontal cortex) after 49 days. Data results are presented as mean $\pm$ SD, and a p-value less than 0.05 ($p < 0.05$) was considered statistically significant. *Description:* Negative control (NC); Positive control (PC); 100 mg/kg (LLF); 200 mg/kg (ILF); and 400 mg/kg (HLF).

As shown in Figure 1, there was a significant difference ($p < 0.05$) between the normal and NC groups. Brain MDA levels showed a significant difference ($p < 0.05$) between the NC group and PC group and also the NC group and all bLf groups (LLF, ILF, and HLF groups). Figure 1 also showed that brain MDA level had a significant difference ($p < 0.05$) between the PC group and LLF group, where brain MDA level was lower in the PC group, while between the PC group and ILF and HLF groups showed no significant difference ($p > 0.05$). In addition, differences were found significantly between the LLF ILF and HLF groups ($p < 0.05$).

3.2. Discussion

In this study, the significant difference ($p < 0.05$) between the normal group and NC group indicates that inducing hyperlipidemia with a high-fat diet (15% sucrose, 5% cow's fat, and 80% quail egg yolk) to increase brain MDA levels was successful. All bovine lactoferrin (bLf) groups [LLF (100 mg/kgBW), ILF (200 mg/kgBW), and HLF (400 mg/kgBW)] were able to reduce brain MDA levels of Sprague-Dawley (SD) rats in hyperlipidemia condition significantly ($p < 0.05$). The comparison between the PC group and all bLf groups shows that the ILF and HLF groups cannot significantly reduce brain MDA levels in hyperlipidemia ($p > 0.05$) compared to the PC group. However, the PC group can significantly ($p < 0.05$) reduce brain MDA levels in hyperlipidemia conditions compared to the LLF group. Besides that, ILF and HLF groups significantly reduced brain MDA levels in hyperlipidemia ($p < 0.05$) than the LLF group.

Another published study supporting this study's results that the authors have conducted with other students by testing various indicators in SD rats induced by HFD was from Jusni et al. (2022), which showed that bLf doses of 100, 200, and 400 mg/kg BW could reduce rats' blood total cholesterol and triglyceride levels in hyperlipidemia condition. Besides that, all doses of bLf in the study also lowered the histopathological steatosis score and activated the Kupffer cell score of rats' fatty liver induced by hyperlipidemia. Several previous studies have also examined the activity of bLf as an antioxidant. However, they did not test brain MDA levels, one of which was a study that has been conducted by Faridvand et al. (2017), which showed that bLf at a dose of 200 mg/kg was able to reduce the value of 8-isoprostane and increase the value of Paraoxonase1 (PON1) in serum in a group of rats induced by high cholesterol diet. 8-isoprostane can be used as a biomarker against lipid peroxidation or oxidative stress (Chandra et al., 2016), and PON1 can act as an antioxidant to inhibit lipid peroxidation (Wu et al., 2022). In addition, research by Chen et al. (2016) showed a significant decrease in the mean value of serum and liver MDA levels after being given a low dose (0.5% bovine lactoferrin) and also a high dose of bLf (1% bovine lactoferrin) in mice induced by high cholesterol diet. Nozari et al. (2018) also conducted the effect of bLf at a dose of 200 mg/kgBW, which could act as an antioxidant to significantly reduce or improve serum homocysteine and leptin levels in rats induced by a high-cholesterol diet. Increased serum homocysteine and leptin levels correlate with the formation of ROS or oxidative stress.

Lactoferrin can reduce MDA levels in hyperlipidemia because the brain augments the expression of lactoferrin receptors in the brain. One of the conditions that can increase the expression of lactoferrin receptors in the brain is a neurodegenerative disease (Khan et al., 2020; Li & Guo, 2021). Lactoferrin (Lf) receptors are found on the intestinal mucosa, intestinal lymphatic tissue cells, and BBB (blood-brain barrier) endothelial cells (Superti, 2020). Lf will be digested in the stomach into smaller molecules after passing the oral route. The digestion results will be absorbed by the intestines and transported through the bloodstream to the central nervous system and ultimately to the brain. Lf is known to penetrate the BBB through a process of transcytosis mediated by the Lf receptor (Khan et al., 2020; Superti, 2020).

Neurodegenerative diseases are associated with increased exposure to oxidative stress (Phaniendra et al., 2015). Dysregulation of brain cholesterol levels in hyperlipidemia also increases the risk of neurodegenerative diseases (Vance, 2012). This foundational theory is supported by research conducted by Brooks et al. (2017), Chun et al. (2020), and Zhao et al. (2017), which shows that the condition of hyperlipidemia/hypercholesterolemia can contribute to the development of neurodegenerative diseases. On the other hand, this study showed a significant difference ($p < 0.05$) in brain MDA levels between the NC group and PC group, which indicates that simvastatin has antioxidant activity to reduce brain MDA levels of SD rats in hyperlipidemia conditions. A systematic review and meta-analysis by Zinellu et al. (2019) also showed that statins could reduce systemic MDA levels. The study by Zhang et al. (2015) also showed that simvastatin significantly reduces rabbits' hippocampus MDA levels in hypercholesterolemia.

This study did not encounter any side effects in rats after being given bLf at doses of 100 mg/kgBW, 200 mg/kgBW, and 400 mg/kgBW, which is supported by the United States Food and Drug Administration and has determined bLf as a food ingredient that is safe for consumption or can be called GRAS (Generally Recognized as Safe) (Gaynor, 2015; Superti, 2020). One product is an isolate from whey protein derived from cows' milk with lactoferrin as one of the primary ingredients. It has been used as a food ingredient for infants and toddlers and has been designated GRAS (Gaynor, 2015). The highest dose studied in rats using the product was up to 2,000 mg/kg BW by Forster et al. (2014), and no side effects were found in rats in the study. Therefore, 2,000 mg/kgBW can still be defined as a NOAEL (no-observed-adverse-effect level).

This study only measured MDA as the lipid peroxidation biomarker, even though other lipid peroxidation biomarkers such as isoprostane and 4-hydroxynonenal (HNE) can be tested. Therefore, we suggest testing other lipid peroxidation biomarkers in the brain in hyperlipidemia conditions to obtain comparable results.

4. CONCLUSION

Bovine lactoferrin (bLf) doses of 100, 200, and 400 mg/kgBW significantly reduced Sprague-Dawley rats' brain malondialdehyde (MDA) levels in hyperlipidemia conditions. However, in this study, bLf doses of 200 and 400 mg/kgBW showed the potential to have the same effect as simvastatin in reducing brain MDA levels.

ACKNOWLEDGEMENT

We express our gratitude and appreciation to the School of Medicine and Health Sciences, Atma Jaya Catholic University of Indonesia, Jakarta, which has contributed to providing research facilities and funds.

CONFLICT OF INTEREST

All authors declared that there was no conflict of interest.

REFERENCES

- Amiya, E. (2016). Interaction of hyperlipidemia and reactive oxygen species: Insights from the lipid-raft platform. *World Journal of Cardiology*, 8(12), 689–694. <https://doi.org/10.4330/wjc.v8.i12.689>
- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, e360438. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>
- Brooks, S. W., Dykes, A. C., & Schreurs, B. G. (2017). A High-Cholesterol Diet Increases 27-Hydroxycholesterol and Modifies Estrogen Receptor Expression and Neurodegeneration in Rabbit Hippocampus. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 56(1), 185–196. <https://doi.org/10.3233/JAD-160725>
- Catalá, A., & Díaz, M. (2016). Editorial: Impact of Lipid Peroxidation on the Physiology and Pathophysiology of Cell Membranes. *Frontiers in Physiology*, 7, 423. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00423>

- Chan, P. T., Matanjun, P., Yasir, S., & Tek Song, T. (2015). Oxidative stress biomarkers in organs of hyperlipidaemic and normal rats fed tropical red seaweed, *Gracilaria changii*. *Journal of Applied Phycology*, 28. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0670-x>
- Chandra, M., Panchatcharam, M., & Miriyala, S. (2016). Biomarkers in ROS and Role of Isoprostanes in Oxidative Stress. In *Free Radicals and Diseases*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/64706>
- Charan, J., & Kantharia, N. D. (2013). How to calculate sample size in animal studies? *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*, 4(4), 303–306. <https://doi.org/10.4103/0976-500X.119726>
- Chen, H.-A., Chiu, C.-C., Huang, C.-Y., Chen, L.-J., Tsai, C.-C., Hsu, T.-C., & Tzang, B.-S. (2016). Lactoferrin Increases Antioxidant Activities and Ameliorates Hepatic Fibrosis in Lupus-Prone Mice Fed with a High-Cholesterol Diet. *Journal of Medicinal Food*, 19(7), 670–677. <https://doi.org/10.1089/jmf.2015.3634>
- Chun, Y. S., & Chung, S. (2020). High-Cholesterol Diet Decreases the Level of Phosphatidylinositol 4,5-Bisphosphate by Enhancing the Expression of Phospholipase C (PLC β 1) in Rat Brain. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3), E1161. <https://doi.org/10.3390/ijms21031161>
- Dias, I., Polidori, M. C., & Griffiths, H. (2014). Hypercholesterolaemia-induced oxidative stress at the blood-brain barrier. *Biochemical Society Transactions*, 42, 1001–1005. <https://doi.org/10.1042/BST20140164>
- Faridvand, Y., Nozari, S., Asoudeh-Fard, A., Karimi, M.-A., Pezeshkian, M., Safaie, N., & Nouri, M. (2017). Bovine lactoferrin ameliorates antioxidant esterase activity and 8-isoprostane levels in high-cholesterol-diet fed rats. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research. Internationale Zeitschrift Fur Vitamin- Und Ernährungsforschung. Journal International De Vitaminologie Et De Nutrition*, 87(3–4), 201–206. <https://doi.org/10.1024/0300-9831/a000516>
- Forrester, S. J., Kikuchi, D. S., Hernandez, M. S., Xu, Q., & Griending, K. K. (2018). Reactive Oxygen Species in Metabolic and Inflammatory Signaling. *Circulation Research*, 122(6), 877–902. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.311401>
- Forster, R., Bourtourault, M., Chung, Y. J., Silvano, J., Sire, G., Spezia, F., Puel, C., Descotes, J., & Mikogami, T. (2014). Safety evaluation of a whey protein fraction containing a concentrated amount of naturally occurring TGF- β 2. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 69(3), 398–407. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2014.05.003>
- Gaynor, P. (2015). GRAS Exemption Claim for Vitalarmor® GF-100, a Basic Whey Protein Isolate, for Use as an Ingredient in Term Infant Formulas and Toddler Formulas. Available from: <https://www.fda.gov/media/97006/download> [Accessed 1st April 2022]
- Grundy, S. M., Stone, N. J., Bailey, A. L., Beam, C., Birtcher, K. K., Blumenthal, R. S., Braun, L. T., de Ferranti, S., Faiella-Tommasino, J., Forman, D. E., Goldberg, R., Heidenreich, P. A., Hlatky, M. A., Jones, D. W., Lloyd-Jones, D., Lopez-Pajares, N., Ndumele, C. E., Orringer, C. E., Peralta, C. A., & Yeboah, J. (2019). 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*, 139(25), e1082–e1143. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000625>
- Jusni, L.F.J., Chandra, V., Djuartina, T., Notario, D., Arieselia, Z., & Hananta, L. (2022). Potential Antihyperlipidemia Effect of Lactoferrin in Hyperlipidemia-Induced Male Sprague–Dawley Rats. *Makara J Health Res*, 26(3), 204–209. <https://doi.org/10.7454/msk.v26i3.1387>

- Kell, D. B., Heyden, E. L., & Pretorius, E. (2020). The Biology of Lactoferrin, an Iron-Binding Protein That Can Help Defend Against Viruses and Bacteria. *Frontiers in Immunology*, 11, 1221. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01221>
- Khan, A. I., Liu, J., & Dutta, P. (2020). Bayesian inference for parameter estimation in lactoferrin-mediated iron transport across blood-brain barrier. *Biochimica Et Biophysica Acta. General Subjects*, 1864(3), 129459. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2019.129459>
- Li, Y.-Q., & Guo, C. (2021). A Review on Lactoferrin and Central Nervous System Diseases. *Cells*, 10(7), 1810. <https://doi.org/10.3390/cells10071810>
- National Institute of Health Research and Development Indonesian Ministry of Health (2018). *Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2018*. Available from: <http://repository.bkpk.kemkes.go.id/3514/1/Laporan%20Riskasdas%202018%20Nasion> [Accessed 10th December 2021]
- Nelson, R. H. (2013). Hyperlipidemia as a Risk Factor for Cardiovascular Disease. *Primary Care*, 40(1), 195–211. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2012.11.003>
- Nozari, S., Fathi Maroufi, N., Nouri, M., Paytakhti Oskouei, M., Shiralizade, J., Yekani, F., Mamipour, M., & Faridvand, Y. (2018). Decreasing serum homocysteine and hypocholesterolemic effects of Bovine lactoferrin in male rat fed with high-cholesterol diet. *Journal of Cardiovascular and Thoracic Research*, 10(4), 203–208. <https://doi.org/10.15171/jcvtr.2018.35>
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
- Pinal-Fernandez, I., Casal-Dominguez, M., & Mammen, A. L. (2018). Statins: Pros and cons. *Medicina Clinica*, 150(10), 398–402. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2017.11.030>
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- Rodwell, V. W., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., & Weil, P. A. (2015). *Harper's illustrated biochemistry* (Thirtieth edition). McGraw-Hill Education.
- Shichiri, M. (2014). The role of lipid peroxidation in neurological disorders. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 54(3), 151–160. <https://doi.org/10.3164/jcbrn.14-10>
- Superti, F. (2020). Lactoferrin from Bovine Milk: A Protective Companion for Life. *Nutrients*, 12(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/nu12092562>
- Vance, J. E. (2012). Dysregulation of cholesterol balance in the brain: Contribution to neurodegenerative diseases. *Disease Models & Mechanisms*, 5(6), 746–755. <https://doi.org/10.1242/dmm.010124>
- Wu, C.-C., Cheng, Y.-H., Chen, K.-H., & Chien, C.-T. (2022). Deep Sea Water-Dissolved Organic Matter Intake Improves Hyperlipidemia and Inhibits Thrombus Formation and Vascular Inflammation in High-Fat Diet Hamsters. *Life*, 12(1), 82. <https://doi.org/10.3390/life12010082>
- Yang, W., Shi, H., Zhang, J., Shen, Z., Zhou, G., & Hu, M. (2017). Effects of the duration of hyperlipidemia on cerebral lipids, vessels and neurons in rats. *Lipids in Health and Disease*, 16. <https://doi.org/10.1186/s12944-016-0401-6>
- Zhang, G., Li, M., Xu, Y., Peng, L., Yang, C., Zhou, Y., & Zhang, J. (2015). Antioxidation Effect of Simvastatin in Aorta and Hippocampus: A Rabbit Model Fed High-Cholesterol Diet. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, e6929306. <https://doi.org/10.1155/2016/6929306>
- Zhao, X.-S., Wu, Q., Peng, J., Pan, L.-H., Ren, Z., Liu, H.-T., Jiang, Z.-S., Wang, G.-X., Tang, Z.-H., & Liu, L.-S. (2017). Hyperlipidemia-induced apoptosis of hippocampal neurons in

- apoE(–/–) mice may be associated with increased PCSK9 expression. *Molecular Medicine Reports*, 15(2), 712–718. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.6055>
- Zinellu, A., Paliogiannis, P., Usai, M. F., Carru, C., & Mangoni, A. A. (2019). Effect of statin treatment on circulating malondialdehyde concentrations: A systematic review and meta-analysis. *Therapeutic Advances in Chronic Disease*, 10. <https://doi.org/10.1177/2040622319862714>
- Zlatković, J., Todorović, N., Bošković, M., Pajović, S. B., Demajo, M., & Filipović, D. (2014). Different susceptibility of prefrontal cortex and hippocampus to oxidative stress following chronic social isolation stress. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 393(1–2), 43–57. <https://doi.org/10.1007/s11010-014-2045-z>

The Relationship of *In Vitro* Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity with Total Phenolic and Flavonoids Content of *Tithonia diversifolia* Leaves Ethanolic Extract and Fractions

Endah Puspitasari*, Nuri Nuri, Siti Muslichah, Bawon Triatmoko dan Dewi Dianasari

Bioactive Natural Product Development Research Group, Faculty of Pharmacy, University of Jember, Jember, Indonesia

*Corresponding author: e.puspitasari@unej.ac.id

Received: January 9, 2024; **Accepted:** November 4, 2024; **Published:** November 26, 2024

Abstract

A previous study showed that *Tithonia diversifolia* ethanolic extract has antiproliferative properties against HeLa cervical cancer cells. It has also shown anti-inflammatory properties *in vivo*, one of the approaches to cancer chemoprevention. This research aimed to determine the relation of *in vitro* anti-inflammatory and antioxidant activity of *T. diversifolia* leaves ethanolic extract and fractions with total phenolic and flavonoid content. The anti-inflammatory was evaluated *in vitro* using red blood cell (RBC) membrane stabilization and inhibition of protein denaturation method, while antioxidant activity was done using the DPPH method. Phytochemical screening was done using the TLC method. Total phenolic and flavonoid content were also counted using the colorimetry method. ANOVA followed by LSD post hoc, multiple regression analysis, and Pearson correlation were used to analyze the data. Compared to its fractions, the highest anti-inflammatory and antioxidant activity was obtained from *T. diversifolia* leaves ethanolic extract. The *T. diversifolia* leaves ethanolic extract contained terpenoids, alkaloids, polyphenols, and flavonoids. Overall, the antioxidant property contributed more to RBC membrane stabilization than protein denaturation inhibition. The phenolic and flavonoid content contributed most to antioxidant and red blood cell membrane stabilization rather than protein denaturation inhibition.

Keywords: Anti-inflammatory; Antioxidant; Phytochemical screening; *Tithonia diversifolia* leaves extract and fractions; Total phenolic and flavonoids content

1. INTRODUCTION

Inflammation is a defense mechanism to local injury that protects from tissue damage caused by physical, chemical, or microbiological trauma (Tu et al., 2022). Inflammation is the cause of many diseases, including cancer (Greten & Grivennikov, 2019). The incidence of cancer in the world is increasing. According to estimates (Siegel et al., 2023), there were 609,820 cancer deaths and 1,958,310 new cancer cases in the US alone. Cancer is the cause of one death out of every six (World Health Organization, 2022). An approach to cancer chemoprevention is anti-inflammatory drugs (Greten & Grivennikov, 2019). First-line anti-inflammatory drugs can cause serious side effects, e.g., impaired renal function, hypertension, edema, gastrointestinal bleeding, and even increase the risk of heart failure, stroke, myocardial

infarction, and death (Bindu et al., 2020). To avoid these side effects caused by anti-inflammatory drugs, researchers are exploring new anti-inflammatory candidates, including those from natural products, e.g., plants (Nunes et al., 2020). One candidate that could be explored as an anti-inflammatory agent is *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray.

A previous study showed that ethanolic extract of *T. diversifolia* leaves exhibited antiproliferative activity on HeLa cervical cancer cells (Puspitasari et al., 2022). *T. diversifolia* is used as an anti-inflammatory preparation by society (Dalimartha, 1999). Ethanolic extract of *T. diversifolia* leaves exhibited anti-inflammatory activity *in vivo* by reducing the exudate volume of carrageenan-induced mice paw edema models (Lubis et al., 2020). The polar extract of *T. diversifolia* leaves contains chlorogenic acid and sesquiterpene lactone, which show better anti-inflammatory effects than indomethacin (Lopes et al., 2021). *T. diversifolia* leaves exhibit antioxidant activity (Tamfu et al., 2022). Compounds with antioxidant activity usually have anti-inflammatory properties (Bourais et al., 2023). This research was conducted to reveal a detailed mechanism of action of the anti-inflammatory properties of *T. diversifolia* leaves ethanolic extract and their fractions, i.e., n-hexane, dichloromethane, and methanol-water fraction, their antioxidant properties, as well as to determine the relationship of anti-inflammatory and antioxidant activity with total phenolic and flavonoids content. Fractionation of an extract is a further step for natural products' isolation (Xin et al., 2021). Thus, this research was aimed at preliminary bioactivity-guided isolation for the anti-inflammatory and antioxidant activity of *T. diversifolia* leaves ethanolic extract.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Extraction and fractionation of *T. diversifolia* leaves

T. diversifolia leaves were collected from Jember. They were hand-picked based on healthy and mature leaves and taken from a mature plant starting from the 5th strand from the tip of the stem to the base. The plant identity was confirmed using plant determination at the Botany Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences University of Jember. The leaves were air-dried, pulverized, and sifted prior to extraction. The extraction used maceration on 100-gram leaves with continuous stirring with 96% ethanol as solvent (1:7 ratio). The maceration was repeated three times. The extract was evaporated using a rotary evaporator (Heidolph Laborota 4000) until a thick extract was obtained (Puspitasari et al., 2022). A 20-gram thick ethanolic extract was then diluted with methanol-water (1:1), followed by fractionation using the liquid-liquid partition method with n-hexane, dichloromethane, and methanol-water using a 1:1 ratio. The fractions were evaporated using a rotary evaporator until thick fractions were obtained.

2.2. Anti-inflammatory assay using red blood cells membrane stabilization method

Ethical clearance was obtained from KEPK FKG Jember University with number 1423/UN25.8/KEPK/DL/2021. The red blood cell (RBC) membrane stabilization method was done based on (Yesmin et al., 2020) with slight modification. RBCs were obtained from female rabbits, placed in EDTA tubes, and centrifuged at 3,000 rpm for 15 min at room temperature.

The residue was washed with isosaline until the supernatant was clear. The RBC obtained was suspended 10% in isosaline.

All of the experiments were carried out in three replicates. A test solution of 4.5 mL was prepared by adding 1 mL of 0.15 M PBS pH 7.4 with 0.5 mL of RBC suspension (2% v/v), 1 mL of sample solution with the series concentration of 500, 250, 125, 62.5, and 31.3 µg/mL, and 2 mL of hyposaline solution (0.25% b/v). Sodium diclofenac (Phapros, series concentration of 500, 250, 125, 62.5, and 31.3 µg/mL) was used as a positive control. The mixture was incubated at 56 °C for 30 min in a water bath, followed by centrifugation at 5,000 rpm for 10 min at room temperature, and read at 560 nm absorbance using an ELISA reader (Dialab EL X800). The stability of red blood cells was then calculated based on Formula 1.

$$\text{Red blood cell membrane stability (\%)} = \frac{(100 - (\text{sample absorbance} - \text{control absorbance}))}{(\text{control absorbance})} \times 100\%$$

Formula 1. The calculation of the percentage stability of red blood cell membrane.

The plot of concentration vs. RBC membrane stability was made as the basis of the IC₅₀ calculation.

2.3. Anti-inflammatory assay using protein denaturation inhibition method

The protocol used for this method was adapted from Saleem et al. (2020). The reaction mixture consisted of 0.2 mL of 1% bovine serum albumin (BSA, BioPLUS) and 2.8 mL of PBS (pH adjusted to 6.4 with 1N HCl) to which normal saline (negative control), test extract/fractions (500, 250, 125, 62.5, and 31.3 µg/mL), or sodium diclofenac (500, 250, 125, 62.5, and 31.3 µg/mL) were added as positive controls. The mixture was incubated at 37 °C for 20 minutes and heated to 51 °C for 20 minutes. After cooling, the absorbance was measured at 660 nm. The experiment was carried out in three replicates. Inhibition of protein denaturation was calculated based on Formula 2.

$$\text{Protein denaturation inhibition (\%)} = \frac{(\text{control absorbance} - \text{samp absorbance})}{(\text{control absorbance})} \times 100\%$$

Formula 2. The calculation of the percentage protein denaturation.

The plot of concentration vs protein denaturation inhibition was made as the basis of the IC₅₀ calculation.

2.4. Antioxidant assay using DPPH method

The antioxidant assay was done using the DPPH microplate assay. Briefly, the extract and fractions were diluted using methanol (Merck), and then 150 µl of the sample was placed in a 96-well plate with 100 µl of 0.2 mM DPPH solution (Sigma Aldrich). After incubation for 30 minutes at room temperature in a dark room, the absorbance was measured at 515 nm using an ELISA reader (Dialab EL X800). Vitamin C (Emsure, concentration of 21.2, 10.6, 5.3, 2.65, 1.325, 0.663, 0.331, and 0.116 µg/mL) was used as a positive control. The experiment was carried out in three replicates. A series of concentrations used ranging from 100.6-0.686 µg/mL for the ethanolic extract, 500-3.906 µg/mL for n-hexane fraction, 106-0.828 µg/mL for

dichloromethane fraction, and 104-0.813 µg/mL for methanol-water fraction, to make sure that the IC₅₀ calculated by interpolation of each sample. The antioxidant activity was calculated based on Formula 3.

$$\text{DPPH scavenging activity (\%)} = \frac{(\text{control absorbance} - \text{sample absorbance})}{(\text{control absorbance})} \times 100\%$$

Formula 3. The calculation of percentage antioxidant activity by DPPH scavenging activity.

The plot of concentration vs DPPH scavenging activity was made as the basis of the IC₅₀ calculation (Nasution et al., 2019).

2.5. Phytochemical screening

The phytochemical screening of the extract and fractions of *T. diversifolia* leaves was done based on the TLC method with the respective chemical spray to detect terpenoids (anisaldehyde sulfuric acid), alkaloids (Dragendorff's reagent), polyphenols (FeCl₃), and flavonoids (boric citrate) (Moulishankar, 2021). The TLC was done using silica gel 60 F₂₅₄ as the stationary phase. In contrast, the mobile phase was the optimum composition, resulting in the best separation and resolution for the spots found in each sample. The mobile phase used was and n-hexane (Merck): ethyl acetate (Merck) (3:2) for ethanol extract, toluene (Merck): ethyl acetate (Merck) (7:3) for n-hexane fraction, n-hexane (Merck): ethyl acetate (Merck) (2:1) for dichloromethane fraction, and n-hexane (Merck): ethyl acetate (Merck): methanol (Merck) (1:1:2) for methanol-water fraction.

2.6 Total phenolic content

The experiment was carried out in three replicates. A 100 µl sample (extract or fractions at the concentration of 1,060 µg/mL (ethanolic extract); 1,010 µg/mL (n-hexane fraction); 1,040 µg/mL (dichloromethane fraction); and 1,000 µg/mL (methanol-water fraction)) solution in methanol (Merck) was reacted with 100 µl Folin Ciocalteu reagent (Merck) in 96 healthy plate. A 50 µl of Na₂CO₃ (Merck) was added. After 30 min of incubation at room temperature in a dark place, the absorbance was measured at 735 nm using an ELISA reader (Dialab EL X800). The phenol content was calculated by plotting the sample absorbance into the standard curve of gallic acid (Sigma Aldrich, concentration of 50, 40, 30, 20, and 10 µg/mL) (Loucif et al., 2020).

2.7. Total flavonoid content

The experiment was carried out in three replicates. Sample (extract or fractions at the concentration of 1,060 µg/mL (ethanolic extract); 1,010 µg/mL (n-hexane fraction); 1,040 µg/mL (dichloromethane fraction); and 1,000 µg/mL (methanol-water fraction)) was dissolved in methanol and pipetted 100 µl in a 96 well plate, followed by the addition of 100 µl AlCl₃ 50 µl CH₃COOK 10%, and 50 µl methanol (Merck). The incubation was done for 30 min in a dark room at room temperature. Then, the absorbance was measured at 425 nm using an ELISA reader (Dialab EL X800). The flavonoid content was calculated as quercetin equivalent based on a quercetin (Sigma Aldrich) standard curve plot with concentrations of 40, 30, 25, 20, and

10 µg/mL (Loucif et al., 2020).

2.8. Data analysis

The IC₅₀ obtained from the anti-inflammatory and antioxidant assay and the total phenolic and flavonoid content were evaluated for their differences using ANOVA, followed by LSD using a 99% confidence level. The multiple regression analysis was done to analyze whether total phenolic and flavonoid content contributed to the anti-inflammatory and antioxidant activity, while the Pearson correlation analysis was done to determine the correlation between parameters in this research.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Plant determination has established that the plant's identity was *T. diversifolia*. The extract and fraction yields obtained are shown in Table 1. The yield difference was suggested due to the different solubility of the compounds fractionated by different solvent polarities. The highest yield was obtained from the methanol-water fraction, suggesting that the ethanolic extract of *T. diversifolia* leaves contained more polar compounds than non-polar and semi-polar compounds.

The anti-inflammatory activity of each sample is shown in Table 2. Even though the anti-inflammatory activity of the extract and fractions was incomparable to sodium diclofenac as the positive control for these assays, the IC₅₀ for the extract and fractions was considered promising. All the samples exhibited significantly different anti-inflammatory in both methods. The ethanolic extract of *T. diversifolia* leaves showed the highest anti-inflammatory activity on both methods.

Table 1. Extract and fractions yield obtained from *T. diversifolia* leaves.

Sample	Yield (%)
Ethanolic extract of <i>T. Diversifolia</i> leaves	23.425
N-hexane fraction of <i>T. Diversifolia</i> leaves	10.217
Dichloromethane fraction of <i>T. Diversifolia</i> leaves	22.751
Methanol-water fraction of <i>T. Diversifolia</i> leaves	49.215

The antioxidant activity of *T. diversifolia* leaves ethanolic extract and its fractions are shown in Table 3. The vitamin C as a positive control showed that the method had been carried out correctly. The IC₅₀ values of all samples were significantly different. Both ethanolic extract and methanol-water fraction of *T. diversifolia* leaves showed strong antioxidant activity, but the other two (n-hexane and dichloromethane fraction of *T. diversifolia* leaves) exhibited intermediate antioxidant activity. Again, the ethanolic extract of *T. diversifolia* leaves showed the highest antioxidant activity.

The phytochemical screening showed that the ethanolic extract of *T. diversifolia* leaves contains more complex compounds compared to its fractions (Figure 1 and Table 4). The fractionation did separate the compounds based on their polarity. Alkaloids did not appear in any fraction, suggesting that this compound might be too low to be detected by the TLC spray

reagent to be observed with the eyes. Since alkaloids were found in the extract, they must have been found in any fractions. The sensitivity is the limitation of TLC spray reagents (Zhang et al., 2021). It might be found in the fractions if we used the colorimetric method using a spectrophotometer since instrumental analysis would be more precise. The instrumental analysis will provide more sensitivity, resulting in more reliable data (Zhang et al., 2021). Alkaloids in *T. diversifolia* leaves seem to be the lowest compounds found compared to others, e.g., terpenoids, polyphenols, and flavonoids. Studies showed that only two alkaloids are found in *T. diversifolia* leaves (Zhao et al., 2012).

Table 2. Anti-inflammatory activity of *T. diversifolia* leaves ethanolic extract and its fractions. Description: *IC₅₀ data was shown as mean $\pm$ SD (n=3); different letter notations in the same column indicate significant differences (LSD, p<0.01) in red Blood Cells (RBC).

Sample	IC ₅₀ (μg/mL)*	
	RBC membrane stabilization	Protein denaturation inhibition
Sodium diclofenac	60.315 $\pm$ 0.729 ^a	2.171 $\pm$ 0.025 ^f
Ethanolic extract of <i>T. diversifolia</i> leaves	78.427 $\pm$ 0.594 ^b	2.529 $\pm$ 0.044 ^g
n-hexane fraction of <i>T. diversifolia</i> leaves	94.500 $\pm$ 0.206 ^c	3.745 $\pm$ 0.085 ^h
Dichloromethane fraction of <i>T. diversifolia</i> leaves	89.268 $\pm$ 0.224 ^d	2.937 $\pm$ 0.036 ⁱ
Methanol-water fraction of <i>T. diversifolia</i> leaves	92.236 $\pm$ 0.570 ^e	3.502 $\pm$ 0.021 ^j

The ethanolic extract of *T. diversifolia* leaves and its fractions were then evaluated for their phenolic and flavonoid content. The total phenolic and flavonoid content is shown in Table 5. All the phenolic and flavonoid content were significantly different among the samples. The ethanolic extract of *T. diversifolia* leaves contained the highest phenolic compound. The ethanolic extract is more complex than the fractions, suggesting that the compounds in the ethanolic extract were being divided further into fractions (López-Cabeza et al., 2024). Thus, the ethanolic extract contained the highest phenolic compounds compared to its fractions.

Table 3. Antioxidant properties of *T. diversifolia* leaves ethanolic extract and its fractions. Description: *IC₅₀ data was shown as mean $\pm$ SD (n=3), Different letter notations indicate significant differences (LSD, p<0.01), **DPPH antioxidant activity classification based on Phongpaichit et al. (2007).

Sample	IC ₅₀ ((μg/mL)*	Antioxidant category**
Vitamin C	2.534 $\pm$ 0.118	Very strongly active
Ethanolic extract of <i>T. diversifolia</i> leaves	22.592 $\pm$ 0.468 ^a	Strongly active
n-hexane fraction of <i>T. diversifolia</i> leaves	67.755 $\pm$ 0.674 ^b	Moderately active
Dichloromethane fraction of <i>T. diversifolia</i> leaves	51.105 $\pm$ 0.805 ^c	Moderately active
Methanol-water fraction of <i>T. diversifolia</i> leaves	27.218 $\pm$ 0.848 ^d	Strongly active

On the other hand, the highest flavonoid content was measured in the n-hexane fraction of *T. diversifolia* leaves. Some flavonoid compounds are non-polar polymethoxy aglycones or isoflavones, in which sugar groups or glycoside forms are released (Satria et al., 2022). However, there is a possibility that the total flavonoid content obtained does not show the actual

results. It is because extracts and fractions already have a color before being reacted; for example, the n-hexane fraction is green because it contains a lot of chlorophyll. Chlorophyll will be detected at a wavelength of 320-430 nm (Christiana et al., 2008), while the wavelength used for flavonoid detection with AlCl_3 is at a wavelength of 425 nm. At the test wavelength, chlorophyll is absorbed, so the calculated flavonoid content is above the actual value.

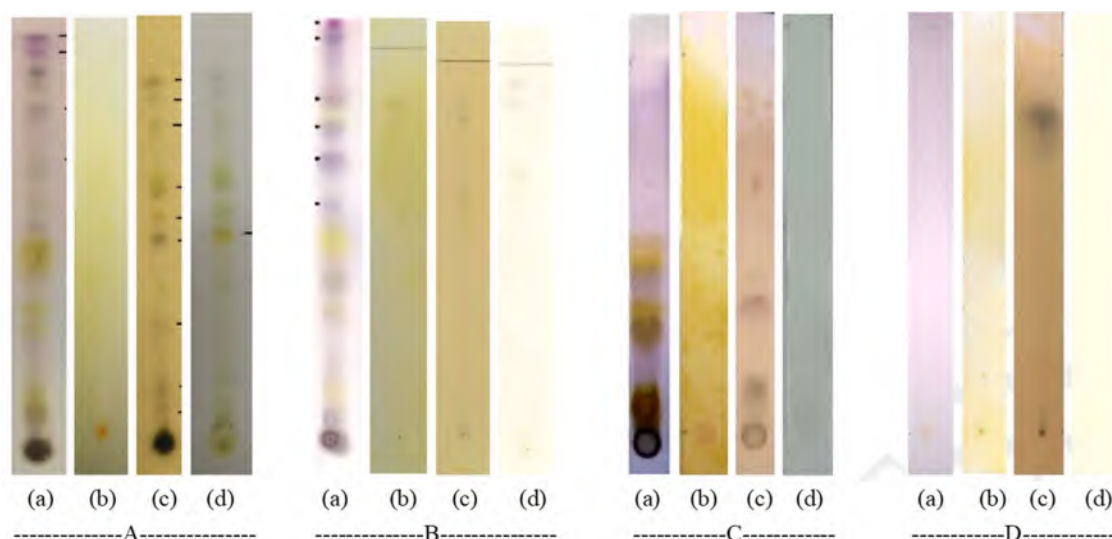


Figure 1. Chromatogram of phytochemical screening on ethanolic extract (A), n-hexane fraction (B), dichloromethane fraction (C), and methanol-water fraction of *T. diversifolia* leaves. The TLC was done using silica gel 60 F₂₅₄ as the stationary phase. The mobile phase used was n-hexane (Merck): ethyl acetate (Merck) (3:2) for ethanol extract (A); toluene (Merck): ethyl acetate (Merck) (7:3) for n-hexane fraction (B); n-hexane (Merck): ethyl acetate (Merck) (2:1) for dichloromethane fraction (C); and n-hexane (Merck): ethyl acetate (Merck): methanol (Merck) (1:1:2) for methanol-water fraction (D). The chromatogram sprayed using respective spray reagents for specific compounds, i.e., anisaldehyde sulfuric acid for terpenoids, characterized by purplish spots (a); Dragendorff's reagent for alkaloids, characterized by orangish spots (b); FeCl_3 for polyphenols, characterized by blackish spots (c); and boric citrate for flavonoids, characterized by yellowish spots which disappeared quickly (d). Smear color will lead to undetectable compounds visually (Zhang et al., 2021).

Some fractions, i.e., n-hexane and dichloromethane fractions of *T. diversifolia* leaves, resulted in higher flavonoid content than phenolic content. Theoretically, flavonoids are part of phenolic compounds. It is unlikely to have a higher flavonoid quantification than phenolic compounds. However, sometimes, the researchers found the same anomaly, the flavonoid content they had was higher than the phenolic compound (Yu et al., 2021; Zulkifli et al., 2020). Nevertheless, there needs to be a brief explanation of this phenomenon. Not all phenolic compounds could be determined by the Folin Ciocalteu reagent or simply because the reference substances used as standard are different.

The multiple regression analysis showed that total phenolic and flavonoid content contributed 92.1% and 90.6% of anti-inflammatory and antioxidant activity, respectively (Figure 2). The unstandardized predicted value was for anti-inflammatory (both from RBC

membrane stabilization and protein denaturation inhibition method) and antioxidant activity. Total phenolic and flavonoid content significantly affected anti-inflammatory and antioxidant activity and were classified as highly correlated (Eryani et al., 2022).

Table 4. Phytochemical screening of *T. diversifolia* leaves ethanolic extract and its fractions.

Sample	Terpenoids	Alkaloids	Polyphenols	Flavonoids
Ethanolic extract of <i>T. diversifolia</i> leaves	+	+	+	+
N-hexane fraction of <i>T. diversifolia</i> leaves	+	-	+	+
Dichloromethane fraction of <i>T. diversifolia</i> leaves	+	-	+	+
Methanol-water fraction of <i>T. diversifolia</i> leaves	-	-	+	+

Based on Pearson correlation analysis (Table 6), the correlation of total phenolic content to the anti-inflammatory activity (both from RBC membrane stabilization and protein denaturation inhibition method) was negative, meaning that the higher the phenolic content, the lower the IC₅₀ on RBC membrane stabilization and protein denaturation inhibition. The total phenolic content played a significant correlation to RBC membrane stabilization with the value of -0.768 (high negative correlation, $p < 0.01$), but no significant correlation to protein denaturation inhibition and antioxidant activity with a correlation coefficient of -0.626 (moderate negative correlation) and -0.403 (low negative correlation), respectively. The total flavonoid content negatively correlated to antioxidant activity, suggesting that the higher the total flavonoid content, the lower the IC₅₀ to antioxidant activity.

Table 5. Total phenolic and flavonoid content of *T. diversifolia* leaves ethanolic extract and its fractions. *Description:* *Data was shown as mean $\pm$ SD (n=3); different letter notations in the same parameter indicate significant differences (LSD, $p < 0.01$). GAE = gallic acid equivalent. QE = quercetin equivalent.

Sample	Total phenolic content* (mg GAE/g sample)	Total flavonoids content* (mg QE/g sample)
Ethanolic extract of <i>T. diversifolia</i> leaves	32.447 $\pm$ 0.337 ^a	21.374 $\pm$ 0.585 ^e
n-hexane fraction of <i>T. diversifolia</i> leaves	12.035 $\pm$ 0.262 ^b	135.103 $\pm$ 0.517 ^f
Dichloromethane fraction of <i>T. diversifolia</i> leaves	16.287 $\pm$ 0.730 ^c	63.661 $\pm$ 1.056 ^g
Methanol-water fraction of <i>T. diversifolia</i> leaves	26.349 $\pm$ 0.330 ^d	11.901 $\pm$ 0.119 ^h

On the other hand, the correlation between total flavonoid content and anti-inflammatory activity (RBC membrane stabilization and protein denaturation inhibition method) was positive. This anomaly is related to the anomaly in the total flavonoid content calculation due to the previously described challenges. There was no significant correlation between total flavonoid content and anti-inflammatory and antioxidant activity. The correlation coefficient on total flavonoid content to RBC membrane stabilization was 0.433 (low positive correlation), protein denaturation inhibition was 0.47 (low positive correlation), and antioxidant was -0.233 (negligible negative correlation) (Mukaka, 2012).

These findings would complete the anti-inflammatory mechanism of action of ethanolic extract of *T. diversifolia* leaves and its fraction, following red blood cell membrane stabilization and protein denaturation inhibition. The antioxidant properties likely contributed more to RBC

membrane stabilization than protein denaturation inhibition. The phenolic and flavonoid content contributed most to antioxidant and RBC membrane stabilization rather than protein denaturation inhibition (Figure 3).

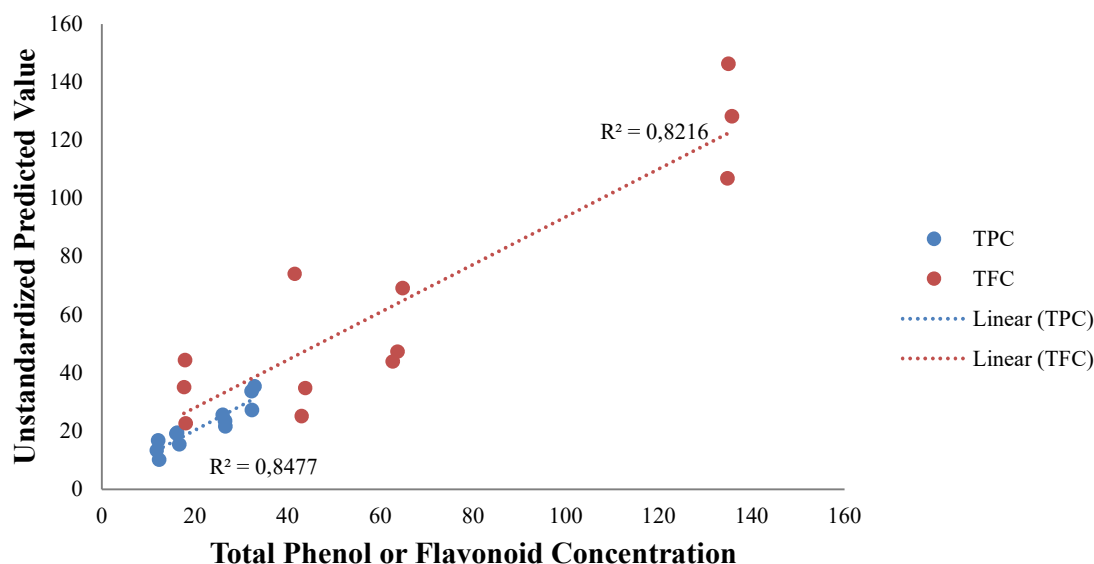


Figure 2. Multiple regression analysis showed that total phenolic (TPC) and flavonoid content (TFC) contributed significantly to the anti-inflammatory and antioxidant activity with high correlation.

The ethanolic extract of *T. diversifolia* leaves showed the highest anti-inflammatory and antioxidant activity. It contained terpenoids, alkaloids, polyphenols, and flavonoids. Terpenoids inhibit cyclooxygenase and suppress c-Jun N-terminal kinase, leading to the inhibition of pro-inflammatory mediators (Subedi & Yumnam, 2021). Alkaloids might inhibit either cyclooxygenase 1 or 2, as well as lipoxygenase, resulting in inhibition of pro-inflammatory mediators (Souto et al., 2011). Polyphenols stabilize membrane structure and function by forming stronger hydrogen bonds (Bouhlali et al., 2020).

Table 6. Pearson correlation analysis on total phenolic and flavonoid content to anti-inflammatory and antioxidant activity. *Description:* * correlation is significant at a 99% confidence level ($p < 0.01$).

Parameter	Pearson correlation value	
	Total phenolic content	Total flavonoid content
RBC stabilization membrane	-0.626	0.470
Protein denaturation inhibition	-0.768*	0.433
Antioxidant	-0.403	-0.801

Mechanism of actions of flavonoids as anti-inflammatory and antioxidant agents are mediated by inhibition of regulatory proteins, e.g., protein kinases and phosphodiesterases, resulting in decreased signal transduction; scavenger activity on free radicals, resulting in decreased oxidative stress; inhibition of phospholipase A2, cyclooxygenase, and lipoxygenase,

causing decrease release of pro-inflammatory mediators; modulation of transcription factors: NF- κ B, GATA-3, STAT-6, resulting in decreased transcription of pro-inflammatory genes; and also inhibition of cell activation, maturation, signaling transduction, secretory processes of immune cells causing immature immune cells, decreased cell proliferation, and decreased release of pro-inflammatory cytokines (Maleki et al., 2019). The possible mechanism of actions of compounds contained in ethanolic extract of *T. diversifolia* leaves are shown in Figure 3. The fact that the ethanolic extract of *T. diversifolia* leaves had the highest anti-inflammatory and antioxidant activity compared to that of the fractions suggests that these compounds in the extract might exhibit synergistic additive effects, not antagonistic ones—the total phenolic and flavonoid concentrations in a plant correlate with the anti-inflammatory and antioxidant activity. The higher polyphenols lead to higher anti-inflammatory and antioxidant activity (Benjamin et al., 2024; Rini et al., 2023). Nevertheless, further research needs to be done to confirm these possibilities.

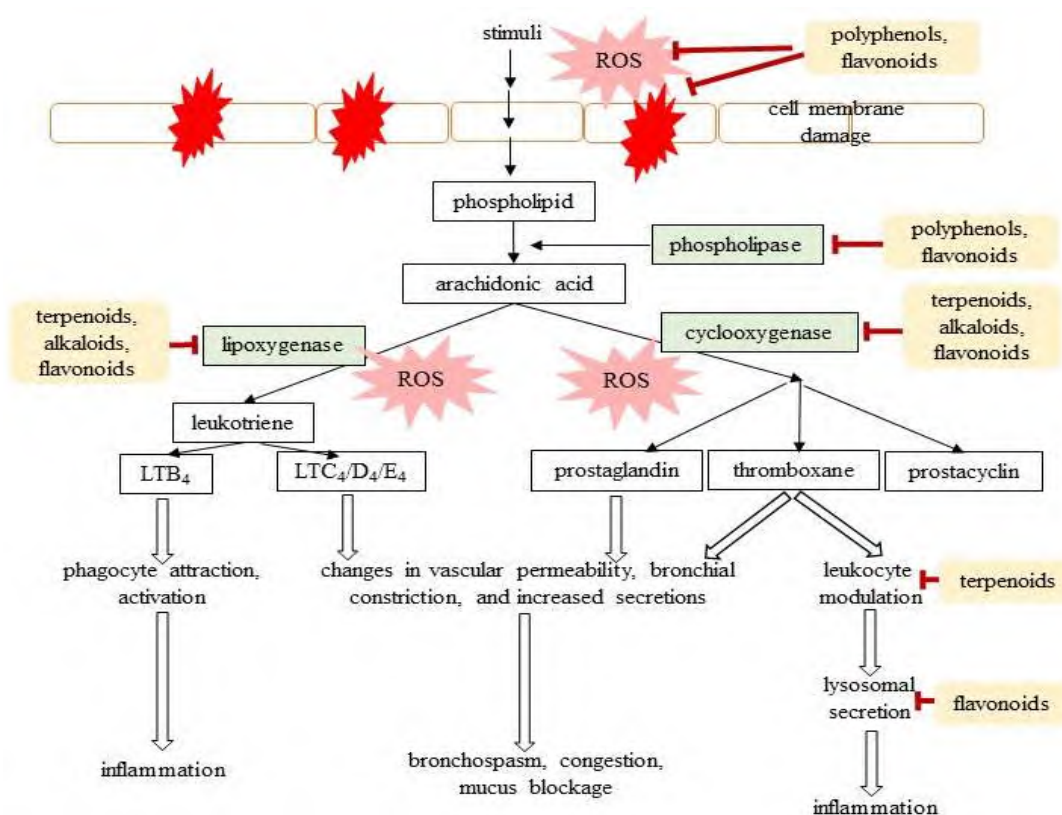


Figure 3. A proposed mechanism on how the compounds contained in ethanolic extract of *T. diversifolia* leaves ethanolic extract and its fractions act as anti-inflammatory and antioxidant (Bouhlali et al., 2020; Katzung et al., 2018; Maleki et al., 2019; Souto et al., 2011; Subedi & Yumnam, 2021). *Description:* Reactive Oxygen Species (ROS), — (inhibit/block).

The ability to block or inhibit inflammation and the antioxidants featured by ethanolic extract of *T. diversifolia* leaves will act as a possible mechanism of the antiproliferative and anticancer activities of *T. diversifolia* leaves. Inflammation is one of the hallmarks of cancer

(Hanahan, 2022). Thus, anti-inflammatory drugs have been repurposed for anticancer therapy (Ozleyen et al., 2023). On the other hand, the antioxidant properties of natural products will scavenge the free radicals in our body and control inflammatory responses, supporting the already considered anti-inflammatory activity. These two mechanisms of action, antioxidant and anti-inflammatory activities, may work synergistically in cancer chemoprevention (Jongrungraungchok et al., 2023).

4. CONCLUSION

Based on the results, we can conclude that the ethanolic extract of *T. diversifolia* leaves had the best anti-inflammatory properties compared to its fractions based on both methods and antioxidant activity. The antioxidant activity contributed more to RBC membrane stabilization compared to protein denaturation inhibition. The phenolic and flavonoid content contributed more to antioxidant and red blood cell membrane stabilization. The ethanolic extract of *T. diversifolia* leaves contained terpenoids, alkaloids, polyphenols, and flavonoids that might exert synergistic or additive effects on anti-inflammatory and antioxidant properties. Nevertheless, research is still needed to confirm these possibilities.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to thank the University of Jember for funding this research through Hibah KeRis 2022 and the students helping with data collection and analysis: Ahya Natasya, Anneke Putri Lestari Junaedi, Feny Saskia Safitri, Intan Nabila Sufi Zikrina, Shinta Dwi Kurniawati, and Ramadhan Bagus Cahyono.

CONFLICT OF INTEREST

All authors declared that there was no conflict of interest.

REFERENCES

- Benjamaa, R., Elbouny, H., Errati, H., Moujanni, A., Kaushik, N., Gupta, R., Ennibi, O. K., Nasser, B., Choi, E. H., Kaushik, N. K., & Essamadi, A. (2024). Comparative evaluation of antioxidant activity, total phenolic content, anti-inflammatory, and antibacterial potential of Euphorbia-derived functional products. *Frontiers in Pharmacology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1345340>
- Bindu, S., Mazumder, S., & Bandyopadhyay, U. (2020). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. In *Biochemical Pharmacology* (Vol. 180). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114147>
- Bouhlali, E. dine T., Hmidani, A., Bourkhis, B., Khouya, T., Ramchoun, M., Filali-Zegzouti, Y., & Alem, C. (2020). Phenolic profile and anti-inflammatory activity of four Moroccan date (Phoenix dactylifera L.) seed varieties. *Heliyon*, 6(2). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03436>
- Bourais, I., Elmarrkechy, S., Taha, D., Mourabit, Y., Bouyahya, A., El Yadini, M., Machich, O., El Hajjaji, S., El Boury, H., Dakka, N., & Iba, N. (2023). A Review on Medicinal Uses, Nutritional Value, and Antimicrobial, Antioxidant, Anti-Inflammatory, Antidiabetic, and Anticancer Potential Related to Bioactive Compounds of J. regia. *Food Reviews International*. <https://doi.org/10.1080/87559129.2022.2094401>

- Christiana, R., Kristopo, H., & Limantara, L. (2008). Photodegradation and Antioxidant Activity of Chlorophyll a from Spirulina (Spirulina sp.) Powder. In *Indo. J. Chem* (Vol. 8, Issue 2).
- Dalimartha, S. (1999). *Atlas tumbuhan obat Indonesia*. Trubus Agriwidya.
- Eryani, I. G. A. P., Jayantari, M. W., & Wijaya, I. K. M. (2022). Sensitivity Analysis in Parameter Calibration of the WEAP Model for Integrated Water Resources Management in Unda Watershed. *Civil Engineering and Architecture*, 10(2). <https://doi.org/10.13189/cea.2022.100206>
- Greten, F. R., & Grivennikov, S. I. (2019). Inflammation and Cancer: Triggers, Mechanisms, and Consequences. In *Immunity* (Vol. 51, Issue 1, pp. 27–41). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.06.025>
- Hanahan, D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. In *Cancer Discovery* (Vol. 12, Issue 1, pp. 31–46). American Association for Cancer Research Inc. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>
- Jongrungruangchok, S., Madaka, F., Wunnakup, T., Sudsai, T., Pongphaew, C., Songsak, T., & Pradubyat, N. (2023). In vitro antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer activities of mixture Thai medicinal plants. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1). <https://doi.org/10.1186/s12906-023-03862-8>
- Katzung, B. G., von Zastrow, M., Holford, N. H., Correia, M. A., Pappano, A. J., Biaggioni, I., Robertson, D., Benowitz, N. L., Harvey, R. D., Grant, A. O., Sam, R., Ives, H., Pearce, D., Reid, I. A., Hwa, J., & et al. (2018). *Basic & Clinical Pharmacology* (B. G. Katzung, Ed.; 14th Edition). McGraw-Hill Education.
- Lopes, D. C. D. X. P., De Oliveira, T. B., Viçosa, A. L., Valverde, S. S., & Ricci Júnior, E. (2021). Anti-Inflammatory Activity of the Compositae Family and Its Therapeutic Potential. In *Planta Medica* (Vol. 87, Issues 1–2, pp. 71–100). Georg Thieme Verlag. <https://doi.org/10.1055/a-1178-5158>
- López-Cabeza, R., Rodríguez-Sabina, S., Reyes, C. P., Expósito, D. G., Giménez, C., Jiménez, I. A., Cabrera, R., & Bazzocchi, I. L. (2024). Bio-guided isolation of aromatic abietane diterpenoids from *Salvia canariensis* as biopesticides in the control of phytopathogenic fungi. *Pest Management Science*, 80(4), 2199–2207. <https://doi.org/10.1002/ps.7958>
- Loucif, K., Benabdallah, H., Benchikh, F., Mehloos, S., Souici, C. Ben, & Amira, S. (2020). Total Phenolic Contents, DPPH Radical Scavenging and β -Carotene Bleaching Activities of Aqueous Extract from *Ammoides atlantica*. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(3-s), 196–198. <https://doi.org/10.22270/jddt.v10i3-s.4151>
- Lubis, B., Saputri, I. N., Ajartha, R., Bangun, S. M. B., Pranata, C., Purba, N., & Turnip, N. U. M. Br. (2020). Anti-inflammatory Activity Test for Ethanol Extract Moon Flower (*Tithonia diversifolia*) Leaves to Male White Mice. *Proceedings of the International Conference on Health Informatics and Medical Application Technology*, 551–557. <https://doi.org/10.5220/0009974705510557>
- Maleki, S. J., Crespo, J. F., & Cabanillas, B. (2019). Anti-inflammatory effects of flavonoids. In *Food Chemistry* (Vol. 299). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125124>
- Moulishankar, A. (2021). Significance of TLC and HPTLC in Phytochemical Screening of Herbal Drugs. In *Article in Journal of Global Pharma Technology*. www.jgpt.co.in
- Mukaka, M. M. (2012). Statistics Corner: A guide to appropriate use of Correlation coefficient in medical research. In *Malawi Medical Journal* (Vol. 24, Issue 3). www.mmj.medcol.mw
- Nasution, M.R., Ardhiyati, B., Tinggi, S., Riau, I. F., Kamboja, J., & Baru-Panam, S. (2019). *Total Fenolik dan Flavonoid serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Tenggek Burung (Eudia redlevi)*.

- Nunes, C. dos R., Arantes, M. B., de Faria Pereira, S. M., da Cruz, L. L., de Souza Passos, M., de Moraes, L. P., Vieira, I. J. C., & de Oliveira, D. B. (2020). Plants as Sources of Anti-Inflammatory Agents. In *Molecules* (Vol. 25, Issue 16). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules25163726>
- Ozleyen, A., Yilmaz, Y. B., Donmez, S., Atalay, H. N., Antika, G., & Tumer, T. B. (2023). Looking at NSAIDs from a historical perspective and their current status in drug repurposing for cancer treatment and prevention. In *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* (Vol. 149, Issue 5, pp. 2095–2113). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s00432-022-04187-8>
- Phongpaichit, S., Nikom, J., Rungjindamai, N., Sakayaroj, J., Hutadilok-Towatana, N., Rukachaisirikul, V., & Kirtikara, K. (2007). Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from Garcinia plants. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 51(3), 517–525. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00331.x>
- Puspitasari, E., Ningsih, Y., Triatmoko, B., & Dianasari, D. (2022). Antiproliferative activity of ethanolic extract of kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) leaf on HeLa cervical cancer cell line. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 13(1), 55–60.
- Rini, S., Shweta, V., Vijender, S., & Sakshi, B. (2023). Impact of geographical location on the polyphenolic content of *Nigella sativa* seed extract and the relative anti-inflammatory and antioxidant potential thereof: A comparative study. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 14(1), 89–96. <https://doi.org/10.56042/ijnpr.v14i1.1132>
- Saleem, A., Saleem, M., & Akhtar, M. F. (2020). Antioxidant, anti-inflammatory and antiarthritic potential of *Moringa oleifera* Lam: An ethnomedicinal plant of Moringaceae family. *South African Journal of Botany*, 128, 246–256. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.11.023>
- Satria, R., Hakim, A. R., & Darsono, P. V. (2022). Penetapan Kadar Flavonoid Total Dari Fraksi n-Heksana Ekstrak Daun Gelinggang dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Journal of Engineering, Technology, and Applied Science*, 4(1), 33–46. <https://doi.org/10.36079/lamintang.jetas-0401.353>
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Wagle, N. S., & Jemal, A. (2023). Cancer statistics, 2023. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 73(1), 17–48. <https://doi.org/10.3322/caac.21763>
- Souto, A. L., Tavares, J. F., Da Silva, M. S., De Diniz, M. F. F. M., De Athayde-Filho, P. F., & Barbosa Filho, J. M. (2011). Anti-inflammatory activity of alkaloids: An update from 2000 to 2010. In *Molecules* (Vol. 16, Issue 10, pp. 8515–8534). <https://doi.org/10.3390/molecules16108515>
- Subedi, L., & Yumnam, S. (2021). Terpenoids from *Abies holophylla* attenuate LPS-induced neuroinflammation in microglial cells by suppressing the JNK-related signaling pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 1–12. <https://doi.org/10.3390/ijms22020965>
- Tamfu, A. N., Roland, N., Mfifan, A. M., Kucukaydin, S., Gaye, M., Botezatu, A. V., Emin Duru, M., & Dinica, R. M. (2022). Phenolic composition, antioxidant and enzyme inhibitory activities of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth., *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray, and *Crossopteryx febrifuga* (Afzel.) Benth. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(4). <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103675>
- Tu, Z., Zhong, Y., Hu, H., Shao, D., Haag, R., Schirner, M., Lee, J., Sullenger, B., & Leong, K. W. (2022). Design of therapeutic biomaterials to control inflammation. In *Nature Reviews Materials* (Vol. 7, Issue 7, pp. 557–574). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41578-022-00426-z>
- World Health Organization. (2022). *WHO Statistics 2022: Monitoring Health for the SDGs*. <http://apps.who.int/bookorders>.

- Xin, Y. J., Choi, S., Roh, K. B., Cho, E., Ji, H., Weon, J. B., Park, D., Whang, W. K., & Jung, E. (2021). Anti-inflammatory activity and mechanism of isookanin, isolated by bioassay-guided fractionation from *bidens pilosa* L. *Molecules*, 26(2). <https://doi.org/10.3390/molecules26020255>
- Yesmin, S., Paul, A., Naz, T., Rahman, A. B. M. A., Akhter, S. F., Wahed, M. I. I., Emran, T. Bin, & Siddiqui, S. A. (2020). Membrane stabilization as a mechanism of the anti-inflammatory activity of ethanolic root extract of Choi (*Piper chaba*). *Clinical Phytoscience*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/s40816-020-00207-7>
- Yu, X., Yang, T., Qi, Q., Du, Y., Shi, J., Liu, X., Liu, Y., Zhang, H., Zhang, Z., & Yan, N. (2021). Comparison of the contents of phenolic compounds including flavonoids and antioxidant activity of rice (*Oryza sativa*) and Chinese wild rice (*Zizania latifolia*). *Food Chemistry*, 344. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128600>
- Zhang, N., Wang, M., Li, Y., Zhou, M., Wu, T., & Cheng, Z. (2021). TLC–MS identification of alkaloids in Leonuri Herba and Leonuri Fructus aided by a newly developed universal derivatisation reagent optimised by the response surface method. *Phytochemical Analysis*, 32(3), 242–251. <https://doi.org/10.1002/pca.2970>
- Zhao, G. J., Xi, Z. X., Chen, W. S., Li, X., Sun, L., & Sun, L. N. (2012). Chemical constituents from *Tithonia diversifolia* and their chemotaxonomic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*, 44, 250–254. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2012.06.019>
- Zulkifli, S. A., Gani, S. S. A., Zaidan, U. H., & Halmi, M. I. E. (2020). Optimization of Total Phenolic and Flavonoid Contents of Defatted Pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) Seed Extract and Its Antioxidant Properties. *Molecules*, 25(4). <https://doi.org/10.3390/molecules25040787>

Autentikasi Minyak Biji Jagung *Zea mays* L.: Pengaruh Metode Ekstraksi dan Analisis Komposisi Menggunakan Metode Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

*Authentication of Corn Seed Oil *Zea mays* L.: Effect of Extraction Method and Composition Analysis Using the Gas Chromatography (GC-MS) Method*

Justitia Cahyani Fadli¹, Any Guntarti^{1,2} dan Nina Salamah^{1,2*}

¹Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

²Ahmad Dahlan Halal Center, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

*Corresponding author: nina.salamah@pharm.uad.ac.id

Diterima: 16 Maret 2024; **Disetujui:** 4 November 2024; **Dipublikasi:** 28 November 2024

Abstrak

Minyak jagung mengandung protein dan asam lemak yang melimpah, sehingga diperlukan metode dan kondisi ekstraksi yang tepat untuk menghasilkan kualitas minyak berkualitas tinggi. Minyak dapat diperoleh dengan cara pemanasan menggunakan alat Soxhlet maupun Reflux dan akan terisolasi dengan pelarut non polar. Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan ekstraksi minyak jagung manis, membandingkan kualitas minyak jagung dari dua metode isolasi serta menganalisis komposisi asam lemak menggunakan GC-MS. Minyak jagung manis yang dihasilkan dari dua metode isolasi Reflux dan Soxhlet dibandingkan dengan parameter SNI dan diidentifikasi komposisi asam lemaknya menggunakan instrumen GC-MS. Parameter kualitas minyak biji jagung manis yang dihasilkan dari metode Soxhlet dan Reflux, memiliki karakteristik warna, bau, indeks bias, kadar air, bilangan asam, bilangan peroksida, dan bilangan iod yang memenuhi persyaratan SNI. Hasil analisis GC-MS menunjukkan metode Reflux menghasilkan 3 kandungan senyawa yaitu, asam palmitat (31,37%), *linoleoyl chloride* (67,15%), dan asam ftalat (1,48%), sedangkan metode Soxhlet menghasilkan 2 kandungan senyawa, yaitu asam palmitat (32,28%) dan asam linoleat (66,89%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi metode ekstraksi minyak biji jagung memengaruhi kualitas minyak serta kandungan asam lemak yang dihasilkan.

Kata kunci: Biji Jagung; Minyak Jagung; Isolasi; GC-MS; Kemometrik

Abstract

Corn oil has a lot of protein and fatty acids, so appropriate extraction methods and conditions are needed to obtain good oil quality. Oil can be obtained by heating using a Soxhlet or Reflux apparatus and will be isolated with non-polar solvents. This study aims to obtain optimal extraction and identify the quality of the results of the variation components of two corn oil isolation methods and their analysis by GC-MS. Sweet corn was isolated using two methods, namely Reflux and Soxhlet. Then, the oil quality was compared with SNI parameters, and the fatty acid content was identified using the GC-MS instrument. In the Soxhlet and reflux methods, the quality parameters of sweet corn seed oil have characteristics of color, odor, refractive index, water content, acid number, peroxide number, and iodine number that meet SNI requirements. The GC-MS analysis results show that the two methods have different compound contents. Namely, the reflux method has three palmitic acid compounds at 31.37%, *linoleoyl*

chloride at 67.15%, and phthalic acid at 1.48%. Then, in the Soxhlet method, there are two compounds: palmitic acid 32.28% and linoleic acid 66.89%. The study results show that different extraction methods affect the corn seed oil's quality and fatty acid composition.

Keywords: Corn kernels; Corn oil; Isolation; GC-MS; Chemometrics

1. PENDAHULUAN

Metode ekstraksi untuk isolasi bahan alam saat ini telah banyak diaplikasikan pada teknologi pembuatan obat herbal. Informasi tentang sifat kimia dan fisika senyawa yang akan diisolasi, serta hasil yang diinginkan dari proses tersebut, diperlukan untuk merancang metode ekstraksi. Namun, untuk produk alami yang belum diketahui metabolit sekundernya, masih memerlukan optimasi metode ekstraksi dengan berbagai perbandingan pelarut untuk menemukan metode yang paling optimum. Pemilihan sebuah metode, peneliti wajib mempertimbangkan kelebihan dan kekurangan dari semua metode yang tersedia, terutama dengan fokus pada efisiensi dan total biaya yang dikeluarkan. Ekstraksi Soxhlet dan Reflux adalah dua metode ekstraksi konvensional. Keduanya sangat populer dan mudah dilakukan untuk ekstraksi senyawa bioaktif dari tumbuhan alami yang akan dijadikan tanaman obat. Secara umum metode ekstraksi ini memiliki kelemahan seperti penggunaan suhu yang tinggi, konsumsi pelarut dalam jumlah besar, waktu yang lama, kebutuhan untuk menguapkan pelarut dalam jumlah besar (Desmiaty *et al.*, 2019).

Zea mays L. atau tanaman jagung manis adalah salah satu tanaman penting di dunia. Selain gandum dan padi, jagung juga diolah menjadi minyak. Jagung mengandung banyak komponen fungsional, seperti serat pangan (fiber diet), asam lemak esensial, isoflavone, mineral besi, β -karoten (provitamin A) dan asam amino esensial (Barrera-Arellano *et al.*, 2019). Menurut data Oil World, produksi 17 jenis minyak nabati dan lemak di seluruh dunia mencapai 236 juta ton pada tahun 2020, naik dari 189,5 juta ton pada tahun 2017. Produksi minyak nabati diperkirakan akan terus naik secara linear, tetapi kebutuhan akan tumbuh secara eksponensial. Konsumsi minyak nabati di dunia akan mencapai sekitar 250 juta ton dalam periode 2017 hingga 2021.

Ekstraksi minyak jagung umumnya dilakukan menggunakan metode Soxhlet dengan pelarut heksana. Penelitian oleh Astuti (2016) menggunakan biji jagung unyil sebagai sampel, dengan variasi waktu ekstraksi. Hasil menunjukkan bahwa waktu ekstraksi selama 12 jam menghasilkan kualitas minyak yang baik sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI). Analisis komposisi kimia menggunakan Kromatografi Gas Spektrometri Massa (GC-MS) mengidentifikasi senyawa utama yaitu asam oleat, asam palmitat, dan asam stearat. Penelitian tersebut menyimpulkan bahwa perbedaan metode ekstraksi memengaruhi kualitas dan komposisi minyak yang dihasilkan.

Kromatografi Gas Spektrometri Massa (GC-MS) adalah teknik analisis yang menggabungkan kromatografi gas dengan spektrometri massa untuk memisahkan dan menganalisis komponen dalam campuran kompleks (Mulyani *et al.*, 2021; Surahmaida *et al.*, 2019). Metode GC-MS sering digunakan untuk menjamin kualitas bahan alam melalui

identifikasi komposisi senyawa kimia secara efisien (Muflihunna *et al.*, 2021). Penelitian ini membandingkan dua metode ekstraksi minyak dari biji jagung manis, yaitu Soxhlet dan Reflux, yang dilanjutkan dengan destilasi sederhana untuk memisahkan pelarut dan memperoleh minyak biji jagung. Tujuan penelitian ini untuk mengevaluasi pengaruh dua metode ekstraksi terhadap kualitas minyak jagung manis yang dihasilkan berdasarkan parameter Standar Nasional Indonesia (SNI). Ekstraksi minyak biji jagung menggunakan metode Reflux belum pernah dilakukan sebelumnya. Sebagian besar terkait isolasi minyak jagung hanya menggunakan satu jenis metode ekstraksi saja, yaitu Soxhlet. Oleh karena itu, perlu dilakukan isolasi minyak jagung dengan metode alternatif seperti Reflux untuk menentukan metode isolasi yang paling efektif dalam menghasilkan minyak biji jagung berkualitas tinggi. Pengujian mutu minyak biji jagung dilakukan untuk memastikan kualitasnya memenuhi standar yang ditetapkan, sementara analisis komposisi minyak biji jagung menggunakan GC-MS bertujuan mengidentifikasi perbedaan hasil antara kedua metode ekstraksi.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu seperangkat alat Soxhlet (Pyrex), seperangkat alat Reflux (Pyrex), seperangkat alat destilasi uap (Pyrex), instrument GC-MS (Shimadzu QP2010SE) dengan spesifikasi: jenis kolom kapiler type Restex Ritx 5MS (30 m x 0,25µm), gas pembawa yang digunakan helium. Detector yang digunakan adalah Mass Spectrometry merk Shimadzu GC-MS QP2010SE dengan volume injeksi 1mL, refractometer Abbe.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu biji jagung manis, N-Hexan (Merck; Darmstadt, Jerman), Na₂SO₄ (Merck; Darmstadt, Jerman), Phenolphthalein 1%, BF₃ (Sigma Aldrich; St. Louis, MO), NaOH (Merck; Darmstadt, Jerman).

2.2. Determinasi sampel

Determinasi jagung dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Ahmad Dahlan dengan mengirim sampel segar utuh meliputi biji dan batang jagung untuk memastikan kebenaran identitas biji jagung tersebut.

2.3. Preprasi sampel

Biji jagung yang telah dibersihkan, kemudian dikeringkan selama 24 jam pada suhu 50°C. Tahap berikutnya biji jagung dihaluskan dan diayak dengan ayakan 20 mesh, hasilnya disimpan dalam wadah yang telah disiapkan. Selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan metode Soxhlet dan Reflux.

2.3.1. Ekstraksi biji jagung menggunakan Soxhlet (Astuti, 2016)

Sampel serbuk biji jagung ditimbang sebanyak 280 g menggunakan pelarut n-heksan sebanyak 3 L hingga diperoleh perbandingan tanaman-pelarut 8:10 pada suhu 70°-80°C dengan metode Soxhlet selama 3 jam. Hasil minyak dipisahkan dari residu pelarut menggunakan destilasi. Hasil ekstraksi dihitung sebagai rendemen ekstrak dari isolasi.

2.3.2. Ekstraksi biji jagung menggunakan Reflux (Hartanti & Theeravit, 2018)

Biji jagung ditimbang sebanyak 280 g menggunakan pelarut n-heksan sebanyak 2,5 L hingga diperoleh perbandingan tanaman-pelarut 8:10 pada suhu 70°-80°C waktu ekstraksi 3 jam. Hasil minyak dipisahkan dari residu pelarut menggunakan destilasi. Hasil ekstraksi dihitung sebagai rendemen ekstrak dari isolasi.

2.4. Uji kualitas minyak biji jagung

Uji kualitas minyak jagung berdasarkan parameter SNI 01-3394-1198 (SNI, 1998) yaitu organoleptis (warna dan bau), kadar air, penetapan bilangan peroksida, kadar asam lemak bebas, dan bilangan Iod.

2.4.1 Organoleptis (Irfan *et al.*, 2022)

Pengamatan secara visual terhadap warna menggunakan indra penglihatan, bau minyak jagung menggunakan indra penciuman dan hasil dibandingkan dengan Standar Nasional Indonesia.

2.4.2. Uji indeks bias (Solarbesain & Pudjihastuti, 2019)

Pengujian indeks bias menggunakan alat refraktometer Abbe. Pengujian dilakukan dengan pengukuran secara langsung sudut bias minyak yang dipertahankan pada kondisi suhu tetap yaitu 20°C, dilakukan replikasi sebanyak 2 kali

2.4.3. Uji kadar air (Tarigan & Simatupang, 2019)

Cawan porselen bersih dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit, didinginkan dalam desikator, dan cawan porselen kering ditimbang hingga bobot tetap. Sampel minyak jagung sebanyak 2 gram dalam cawan porselen dipanaskan selama 4 jam dalam oven bersuhu 105°C, didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang kembali. Proses pengeringan dilakukan sampai berat konstan. Selisih berat sampel sebelum dan sesudah pemanasan menunjukkan kadar air dalam minyak yang dihitung persentasenya menggunakan Persamaan 1 dan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan.

$$\text{Persentase kadar air (\%)} = \frac{(\text{bobot } x - \text{bobot } y)}{\text{bobot } z} \times 100\%$$

Persamaan 1. Perhitungan persentase kadar air. Keterangan: cawan ada minyak (X), cawan kering (Y), sampel basah (Z).

2.4.4. Uji bilangan asam lemak bebas (Irfan *et al.*, 2022; Tarigan & Simatupang, 2019)

Sampel minyak jagung ditimbang sebanyak 28,2±0,2 g, dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 250 mL, ditambahkan 50mL etanol netral panas dan 2 mL indikator fenoftalein (PP). Larutan segera dititrasi menggunakan NaOH 0,100 N hingga muncul warna merah jambu yang stabil selama 30 detik. Persentase Asam Lemak Bebas (ALB) dihitung menggunakan Persamaan 2.

$$\text{Persentase Asam Lemak Bebas (\%)} = \frac{\text{Volume NaOH (mL)} \times N \text{ NaOH} \times \text{BM Asam Lemak}}{\text{Berat Sampel (g)}} \times 100\%$$

Persamaan 2. Perhitungan persentase Asam Lemak Bebas (ALB). Keterangan: Normalitas (N), Bobot Molekul (BM).

2.4.5. Uji bilangan peroksida (Alkaff & Nurlela, 2020)

Minyak jagung ditimbang sebanyak $5,00 \pm 0,05$ g, kemudian, dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL tertutup. Selanjutnya, ditambahkan 12 mL kloroform dan 18 mL asam asetat glasial. Larutan digoyang-goyangkan sampai bahan terlarut semu. Setelah semua bahan tercampur, ditambahkan 0,5 mL larutan jenuh KI. Larutan campuran didiamkan dalam ruangan gelap hingga 30 menit sambil tetap digoyang, selanjutnya ditambahkan 10,0 mL aquadest dan dititrasi dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N sampai titik akhir titrasi yang ditandai dengan warna kuning hampir hilang (kuning pucat). Tambahkan larutan kanji dan lanjutkan titrasi dengan tetap dikocok sampai titik akhir titrasi untuk membebaskan semua *Iodine* yang berada dilapisan kloroform, tambahkan setetes demi setetes larutan natrium thiosulfat hingga berwarna biru. Perhitungan bilangan peroksida menggunakan Persamaan 3.

$$\text{Bilangan peroksida} = \frac{(VxNx1000)}{W}$$

Persamaan 3. Perhitungan Bilangan Peroksida. Keterangan: Volume Titrasi Sampel (V), Normalitas larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (N), Berat Sampel (W).

2.4.6. Uji bilangan iod (Fitriana & Fitri, 2020)

Sampel minyak ditimbang sebanyak 0,5 g ke dalam labu dan ditambahkan kloroform: asam asetat (1:1) kemudian diaduk hingga homogen. Selanjutnya, ditambahkan 10 mL larutan *Wijis* lalu labu ditutup dan diaduk agar tercampur merata. Labu disimpan dalam ruang bebas Cahaya selama 30 menit pada suhu kamar. Selanjutnya ditambahkan 10 mL larutan KI dan 50 mL akuades lalu dititrasi dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N secara perlahan. Dilanjutkan titrasi hingga diperoleh warna kuning hampir hilang, kemudian ditambahkan 1-2 mL larutan kanji dan dilanjutkan titrasi sampai warna biru hilang. Bilangan iod dihitung sesuai Persamaan 4.

$$\text{Bilangan iod} = \frac{(\text{Titrasi (B-S)}) \times N \times 12,69}{W}$$

Persamaan 4. Perhitungan Bilangan Iod. Keterangan: Volume Titrasi Blanko (B), Volume Titrasi Sampel (S), Normalitas larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (N), Berat Sampel (W).

2.5. Analisis Kromatografi Gas Spektrometri Massa (GC-MS)

2.5.1 Derivatisasi (Sudjadi & Rohman, 2018)

Minyak biji jagung diambil sebanyak 3 mL dan ditambahkan 7 mL n-heksana dan 5 mL larutan NaOH dalam metanol. Kemudian ditambahkan 7 mL larutan BF_3 dan dipanaskan selama 10 menit. Untuk mengendapkan natrium gliserolat, sampel ditunggu hingga dingin dan ditambahkan natrium klorida jenuh sebanyak 5 mL. Kemudian, divorteks selama 10 menit. Supernatant yang mengandung derivat asam lemak metil ester (FAME) diambil dan diinjeksikan ke sistem GC-MS (Sudjadi & Rohman, 2018).

2.5.2. Kromatografi Gas Spektrometri Massa (Salamah *et al.*, 2022)

Setelah derivatisasi selesai, sampel minyak 0,2 μL hasil derivatisasi dimasukkan ke dalam vial 5 mL. Sampel minyak disuntikkan ke dalam GC-MS sebanyak 0,2 μL menggunakan syringe secara otomatis. Suhu injektor 250°C dengan volume injeksi 0,2 μL , perbandingan pemisahan 1:200, dan suhu naik dari 50°C selama 2 menit menjadi 99°C dan akhirnya mencapai 250°C.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Determinasi biji jagung manis

Penentuan biji jagung manis yang akan digunakan pada penelitian diperoleh dari Labortorium Biologi Univeritas Ahmad Dahlan. Nama spesies biji jagung manis yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Zea mays Saccharata* L.

3.2. Preparasi minyak biji jagung

Minyak biji jagung manis diekstraksi menggunakan metode konvensional Soxhlet dan metode Reflux. Sampel biji jagung kering seberat 280 g menggunakan pelarut n-heksana masing-masing sebanyak 3 L dan 2,5 L. Proses dilanjutkan destilasi uap-air untuk memisahkan pelarut dari sampel minyak, guna mencegah degradasi komponen minyak. Ekstraksi dilakukan selama 3 hari dengan durasi 3 jam per hari, menghasilkan rendemen sebesar 10,24% untuk metode Soxhlet dan 7,15% untuk metode Reflux. Penggunaan simplisia biji jagung kering dalam tahap ekstraksi, seperti dilaporkan oleh Indarto *et al.*, (2023), proses pengeringan dapat meningkatkan jumlah rendemen. Sebagai pembanding, penelitian Astuti (2016) menggunakan jagung unyil sebagai sampel menghasilkan rendemen sebesar 5,23% dengan metode Soxhlet.

3.3. Uji kualitas minyak biji jagung manis

Standar minyak goreng yang dikonsumsi dapat digunakan sebagai dasar untuk mengontrol kualitas minyak goreng. Standar Nasional Indonesia (Badan Standar Nasional Indonesia, 1998) dapat digunakan sebagai dasar untuk standarisasi minyak jagung. Tabel 1 menunjukkan hasil uji kualitas minyak biji jagung manis, yang mencakup organoleptis, indeks bias, kadar air, bilangan asam, bilangan peroksida, dan bilangan iod.

3.3.1. Organoleptis

Hasil organoleptis (Tabel 1) menunjukkan bahwa minyak biji jagung yang diperoleh melalui metode Soxhlet dan Reflux menunjukkan karakteristik yang sama dari bau dan warna yaitu berwarna orange kekuningan dan berbau jagung. Hasil uji ini sesuai dengan yang telah dipersyaratkan oleh SNI.

3.3.2. Indeks bias

Hasil pengujian menunjukkan bahwa indeks bias minyak biji jagung dari metode Soxhlet (1,434) lebih rendah daripada minyak biji jagung dari metode Reflux (1,448) (Tabel 1). Indeks bias adalah rasio kecepatan cahaya dalam suatu zat terhadap kecepatan cahaya di udara yang berfungsi untuk mengidentifikasi zat, menentukan kemurnian zat, dan menganalisis rasio campuran biner homogen dari komponen yang diketahui. Indeks bias berfungsi sebagai pengukur cepat kemurnian dan kualitas (Solarbesain & Pudjihastuti, 2019). Nilai indeks bias dipengaruhi oleh jumlah rantai karbon dan ikatan rangkap (Prasetyo *et al.*, 2014). Semakin panjang rantai karbon dalam minyak biji jagung maka semakin besar pula nilai indeks bias.

3.3.3. Kadar air

Kadar air minyak biji jagung yang dihasilkan metode Soxhlet (0,08) lebih rendah daripada

metode Reflux (0,12) (Tabel 1). Kadar air yang tinggi dalam minyak dapat memperpendek umur penyimpanan dan meningkatkan risiko pertumbuhan mikroba (Tarigan *et al.*, 2019).

Tabel 1. Hasil parameter uji kualitas minyak biji jagung manis dari metode ekstraksi Soxhlet dan Reflux dibandingkan dengan SNI.

Parameter Uji	Standar Nasional Indonesia Minyak Jagung	Ekstraksi Metode Soxhlet (X±SD)	Ekstraksi Metode Reflux (X±SD)
Organoleptis	Warna: Kuning Bau: Normal	Orange kekuningan Khas bau jagung	Orange kekuningan Khas bau jagung
Indeks Bias	1,45-1,47 %	1,434±0,2	1,448±0,2
Uji Kadar Air	Maks.0,20 %	0,08±0,02	0,12±0,06
Uji Bilangan Asam	Maks. 0,2 mg KOH/g	0,05±0,01	0,8±0,03
Lemak Bebas			
Uji Bilangan	Maks. 10 Meg O ₂ /kg	0,02±0,01	0,07±0,03
Peroksida			
Uji Bilangan Iod	10,3-28 (g I ₂ /g)	14,7±0,7	14±0,7

3.3.4. Bilangan asam lemak bebas

Bilangan asam menunjukkan jumlah asam lemak bebas (FFA) dalam sampel minyak atau lemak. Asam lemak bebas pada minyak dihasilkan dari lipolisis yaitu asam lemak dipisahkan dari triagliserol, umumnya sebagai pengukur kualitas minyak. Jumlah asam minyak biji jagung dengan metode Soxhlet (0,05) lebih rendah daripada metode Reflux (0,8) (Tabel 1). Jumlah asam yang lebih rendah menunjukkan jumlah asam lemak bebas yang lebih rendah (Chen *et al.*, 2019). Jika nilai asam tinggi disebabkan overheating selama pemrosesan, yang meningkatkan reaksi hidrolisis lemak untuk menghasilkan asam-asam lemak bebas dan gliserol pada minyak (Meliyani *et al.*, 2020).

3.3.5. Bilangan peroksida

Bilangan peroksida minyak biji jagung manis dengan metode Soxhlet (0,02) lebih rendah daripada metode Reflux (0,07) (Tabel 1). Bilangan peroksida dapat menunjukkan peningkatan oksidasi sampel minyak (Alkaff & Nurlela, 2020). Minyak dengan bilangan peroksida tinggi tidak stabil dan mudah tengik, sedangkan lipid dengan bilangan peroksida rendah dapat disimpan tanpa kerusakan dalam jangka waktu yang lama (Silalahi *et al.*, 2017).

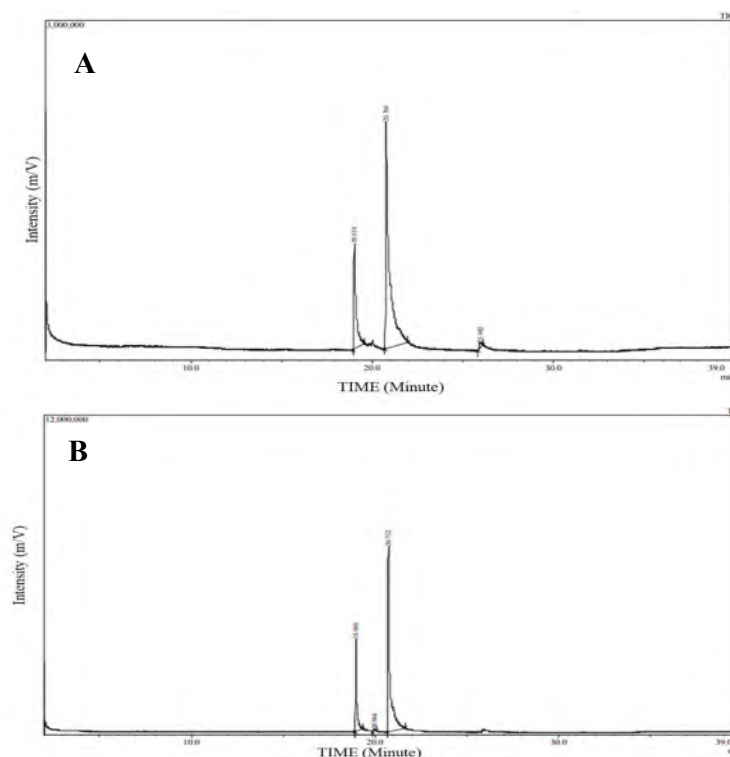
3.3.6. Bilangan iod

Nilai bilangan iod minyak jagung manis hasil metode Soxhlet (14,7) lebih tinggi daripada metode Reflux (14). Perbedaan ini terjadi karena penguraian lemak pada kedua metode menghasilkan trigliserida dan asam oleat. Bilangan iod menunjukkan tingkat ketidakjenuhan minyak atau lemak, nilai bilangan iod yang lebih tinggi menunjukkan konsentrasi asam lemak tidak jenuh yang lebih tinggi. Hal ini menghasilkan kualitas minyak yang lebih baik dan tingkat kerusakan minyak yang lebih rendah. (Fitriana & Fitri, 2020).

3.4 Analisis asam lemak menggunakan GC-MS

Minyak biji jagung manis dianalisis menggunakan metode Gas Kromatografi Spektrometri Massa. Hasil kromatogram (Gambar 1) metode ekstraksi Reflux menghasilkan 3

puncak dengan waktu retensi yang berbeda (Gambar 1A), sedangkan metode ekstraksi Soxhlet menunjukkan 2 puncak dengan waktu retensi berbeda (Gambar 1B). Profil puncak kromatogram minyak biji jagung unyil memiliki pola yang serupa dengan penelitian oleh Astuti (2016), metode ekstraksi Soxhlet menghasilkan 3 puncak spektra fregmentasi. Sementara itu penelitian Carrillo, et al. (2017) menghasilkan profil kromatogram biji jagung biasa dengan 9 puncak yang mengindikasikan berbagai jenis asam lemak.



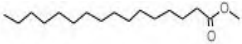
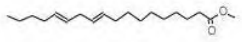
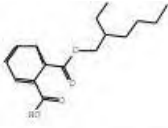
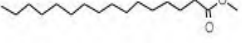
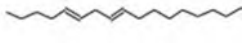
Gambar 1. Kromatogram GC-MS minyak jagung manis (*Zea mays* L.). Keterangan: Kromatogram Metode ekstraksi Reflux (A), Kromatogram metode ekstraksi Soxhlet (B).

Hasil komponen asam lemak minyak jagung yang telah diidentifikasi menggunakan kromatografi massa dibandingkan dengan spektra *database WILEY 9* untuk senyawa yang sama (Salamah *et al.*, 2022), dihitung melalui presentase luas puncak dapat dilihat Tabel 2 menunjukkan ada perbedaan dari hasil spectra puncak pada kedua metode ekstraksi. Menurut *database WILEY 9* ekstraksi minyak metode Reflux menunjukkan 3 puncak dengan spektra fregmentasi senyawa. Pada waktu retensi 19,08 menit, puncak pertama memiliki kemiripan 31,37% dengan spektra asam palmiat dengan ion molekul m/z 270 yang merupakan bobot molekul senyawa, kedua di waktu retensi 20,76 menit memiliki kemiripan 67,15% dengan spektra fregmentasi *linoleoyl chloride* pada puncak ion molekul m/z 298 yang merupakan bobot molekul senyawa, dan ketiga di waktu retensi 25,98 menit memiliki kemiripan 1,48% dengan spektra fregmentasi asam ftalat pada puncak ion molekul m/z 390 yang merupakan bobot molekul senyawa.

Sementara berdasarkan *database WILEY 9* ekstraksi minyak metode Soxhlet memiliki 2 puncak dengan spektra fregmentasi senyawa, pertama pada waktu retensi 18,96 menit, memiliki

kemiripan 32,28% dengan spektra asam palmiat dengan ion molekul m/z 270 yang merupakan bobot molekul senyawa, dan yang kedua di waktu retensi 20,73 menit memiliki kemiripan 66,89% dengan spektra fregmentasi *10,13 Octadecadienoic acid* pada puncak ion molekul m/z 294 yang merupakan bobot molekul senyawa.

Tabel 2. Total komposisi asam lemak pada minyak jagung manis menggunakan GC-MS.

Jenis Metode	Waktu retensi	Komponen kimia	Rumus Molekul	SI (%)	BM (g/mol)	Kandungan (%)
Reflux	19.018 min	Hexadecanoic acid		97	270	31.37
	20.766 min	9,12-Octadecadienoyl chloride		90	298	67.15
	25.982 min	1,2-Benzenedicarboxylic acid		92	390	1.48
Soxhlet	18.960 min	Hexadecanoic acid		97	270	32.28
	20.732 min	10,13-Octadecadienoic acid		89	294	66.89

Komponen asam lemak pada minyak biji jagung manis dengan perbedaan cara metode ekstraksi minyak menunjukkan bahwa terdapat perbedaan komposisi pada masing-masing metode, namun terdapat komponen yang dominan dari kedua metode yaitu asam palmiat yaitu jenis asam lemak jenuh. Seperti pada penelitian yang dilakukan bahwa asam palmiat merupakan senyawa sekunder metil ester. Berdasarkan Perbedaan dan kesamaan komponen asam lemak pada minyak biji jagung manis dapat dilihat pada Tabel 2 yang menampilkan spektra fregmentasi kedua metode. Pada Ekstraksi minyak menggunakan metode Reflux terdapat 2 senyawa yang dominan yaitu asam palmiat similarity index (SI) 97% dan *linoleoyl* dengan similarity index (SI) 90% kedua kompononen senyawa tersebut adalah jenis asam lemak jenuh yang memiliki fungsi sebagai anti inflamasi dan antibakteri seperti penjelasan (Řebíčková *et al.*, 2020). Pada penelitian dengan ekstraksi uap pada tanaman *Houttuynia cordata* (Saururaceae) dan *Persicaria odorata* (Polygonaceae). Pada Senyawa asam ftalat dengan similarity index (SI) 92%, asam ftalat termasuk asam lemak jenuh yang berpotensi sebagai anti-bakteri, dan anti-fungal pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Devi & Mehta, 2017). Sementara pada ekstraksi metode Soxhlet terdapat 2 senyawa yang memiliki presentase tinggi yaitu asam palmiat dengan similarity index (SI) 97% sebelumnya fungsi asam palmiat tersebut. Sedangkan asam linoleat (*10,13 Octadecenoic acid metyl ester*) dengan similarity index (SI) 89%, asam linoleat adalah asam lemak tak jenuh berfungsi sebagai anti-bakteri, antioksidan, dan dapat menurunkan tekanan darah kolesterol (Elwekeel *et al.*, 2023).

Komponen lipid yang terdapat di dalam minyak biji jagung manis dapat diklasifikasikan berdasarkan polaritasnya antara lipid non-polar (lipofilik), rantai karbon (asam lemak) non-polar (lipofilik) (Guerrero-Esperanza *et al.*, 2023). Pada penelitian ini, percobaan perdana ekstraksi minyak jagung manis menggunakan Reflux dan dapat menjadi rujukan selanjutnya jika ingin mengambil komposisi yang dibutuhkan. Sementara itu dapat dilihat bahwa cara

metode ekstraksi dapat berpengaruh pada komposisi yang akan dihasilkan walaupun sama-sama menggunakan metode pemanasan dengan pelarut dan berdasarkan jenis jagung yang digunakan sebagai bahan penelitian. Penelitian sebelumnya (Astuti, 2016), memakai biji jagung unyil menggunakan ekstraksi Soxhlet yang juga metode pemanasan, berdasarkan perbedaan waktu ekstraksi selama 12 jam menghasilkan kualitas minyak yang sesuai dengan SNI.

Kombinasi metode ekstraksi dan pemilihan jenis pelarut yang akurat sangat membantu dalam mengidentifikasi dan skrining komponen kimia dari simplisia, termasuk proses ekstraksi yang dijalankan bisa lebih efisien dan efektif dan meminimalkan penggunaan pelarut (Rifkowsky & Wardanu, 2016). Berdasarkan Tabel 1 dan Tabel 2, menunjukkan bahwa metode Sokletasi dan Reflux memiliki fungsi dalam penyerapan komponen senyawa secara baik, akan tetapi pada penyerapan asam lemak dengan tingkat kemiripan pada database *WILEY* 9 maka dapat dikatakan bahwa perbandingan antara kedua metode tersebut berdasarkan hasil kromatogram GC-MS dengan menggunakan metode Reflux memiliki tingkat kemiripan tinggi > 90% (Tahya & Karnelasatri, 2021).

4. KESIMPULAN

Minyak jagung manis yang dibuat dengan metode Soxhlet memiliki kualitas yang lebih baik dan memiliki komposisi kandungan senyawa asam lemak tak jenuh yaitu Omega-6 dengan presentase 66,89% meskipun ada asam lemak jenuh yaitu asam palmitat dengan presentase 32,38% dibandingkan metode Reflux merujuk pada parameter dan komposisi kandungan senyawa yang diperiksa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Pendanaan dan Pelaksanaan Hibah Riset Nasional Muhammadiyah Batch VII Tahun 2024. Nomor: 0258.571/I.3/D/2024.

DEKLARASI KONFLIK KEPENTINGAN

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alkaff, H., & Nurlela, N. (2020). Analisa Bilangan Peroksida Terhadap Kualitas Minyak Goreng Sebelum dan Sesudah Dipakai Berulang. *Jurnal Redoks*, 5(1), 65. <https://doi.org/10.31851/redoks.v5i1.4129>
- Astuti, D. T. (2016). *Karakterisasi dan Komposisi Kimia Minyak Jagung Unyil (Zea mays L.) Varietas Lokal Pulut*. Universitas Kristen Satya Wacana. <http://repository.uksw.edu/handle/123456789/10422>
- Badaan Standar Nasional Indonesia. (1998). *Minyak Jagung sebagai minyak makanan* (pp. 1–10). Badaan Standar Nasional Indonesia.
- Barrera-Arellano, D., Badan-Ribeiro, A. P., & Serna-Saldivar, S. O. (2019). Corn Oil: Composition, Processing, and Utilization. In *Corn* (pp. 593–613). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811971-6.00021-8>
- Carrillo, W., Carpio, C., Morales, D., Vilcacundo, E., Álvarez, M., & Silva, M. (2017). Content of fatty acids in corn (*Zea mays* L.) oil from Ecuador. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(8), 150. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i8.18786>
- Chen, S., Zhu, Y., Jia, Y., Yun, Y., Han, Z., Feng, G., Zhang, L., & Pang, X. (2019). Study on

- analysis of acid number of transformer oil by temperature titration. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 300(4), 042025. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/300/4/042025>
- Desmiaty, Y., Elya, B., Saputri, F. C., Dewi, I. I., & Hanafi, M. (2019). Effect of Extraction Method on Polyphenol Content and Antioxidant Activity of *Rubus fraxinifolius*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(2), 227. <https://doi.org/10.35814/jifi.v17i2.755>
- Devi, K. M., & Mehta, S. K. (2017). Screening of blue-green algae *Lyngbya* for antibacterial activities. *Science Vision*, 15(3), 98–105.
- Elwekeel, A., Hassan, M., Almutairi, E., AlHammad, M., Alwhbi, F., Abdel-Bakky, M., Amin, E., & Mohamed, E. (2023). Anti-Inflammatory, Anti-Oxidant, GC-MS Profiling and Molecular Docking Analyses of Non-Polar Extracts from Five *Salsola* Species. *Separations*, 10(2), 72. <https://doi.org/10.3390/separations10020072>
- Fitriana, Y. A. N., & Fitri, A. S. (2020). Uji Lipid pada Minyak Kelapa, Margarin, dan Gliserol. *Sainteks*, 16(1), 19–23. <https://doi.org/10.30595/sainteks.v16i1.7013>
- Guerrero-Esperanza, M., Wrobel, K., Wrobel, K., & Ordaz-Ortiz, J. J. (2023). Determination of fatty acids in vegetable oils by GC-MS, using multiple-ion quantification (MIQ). *Journal of Food Composition and Analysis*, 115, 104963. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104963>
- Hartanti, D., & Theeravit, J. (2018). Ekstraksi Kayu *Artocarpus lakoocha*: Pengaruh Metode Dan Rasio Bahan Tumbuhan-Penyari Terhadap Rendemen Ekstraksi. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 15(1), 50. <https://doi.org/10.30595/pharmacy.v15i1.2813>
- Indarto, C., Maflahah, I., Fakhry, M., & . S. (2023). Karakteristik Minyak Jagung Varietas Lokal Madura. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 11(1), 147. <https://doi.org/10.24843/JRMA.2023.v11.i01.p14>
- Irfan, N., Nurani, L. H., Guntarti, A., Salamah, N., & Edityaningrum, C. A. (2022). Analisis Profil Minyak Atsiri Daun Kayu Putih (*Melaleuca leucadendra* L.) dan Produk di Pasaran. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 754–762. <https://doi.org/10.22146/jfps.5785>
- Meliyani, I., Abdul, A., & Youla, N. (2020). Virgin Coconut Oil Hasil Fermentasi Yang Disuplementasi Dengan Kunyit (*Curcuma longa* L .). *Jambura Journal of Food Technology*, 2(2), 51–56.
- Muflihunna, A., Mu'nisa, A., Hala, Y., & Hasri. (2021). Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Analysis and Antioxidant Activity of Sea-Cucumber (*Holothurian atra* and *Holothurian edulis*) From Selayar Island. *Journal of Physics: Conference Series*, 1752(1), 012057. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1752/1/012057>
- Mulyani, Y. W. T., Nurjanah, S., Samsuar, S., & Susanti, L. (2021). Activity Test of Durian Peels Essential Oil (*Durio zibethinus*) as an Antipediculosis Against *Pediculus humanus capitis* Linn. (Anoplura: Pediculidae). *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 6(3), 318. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v6i3.49900>
- Prasetyo, D. R., Aji, M. P., & Supriyadi. (2014). Uji Kualitas Minyak Goreng Berdasarkan Indeks Bias Cahaya Menggunakan Alat Refraktometer Sederhana. *Jurnal Fisika*, 4(1), 48–52. <https://doi.org/10.15294/jf.v4i1.3866>
- Řebíčková, K., Bajer, T., Šilha, D., Houdková, M., Ventura, K., & Bajerová, P. (2020). Chemical Composition and Determination of the Antibacterial Activity of Essential Oils in Liquid and Vapor Phases Extracted from Two Different Southeast Asian Herbs—*Houttuynia cordata* (Saururaceae) and *Persicaria odorata* (Polygonaceae). *Molecules*, 25(10), 2432. <https://doi.org/10.3390/molecules25102432>
- Rifkowsaty, E. E. R., & Wardanu, A. P. (2016). Pengaruh Ekstraksi Cara Basah dan Cara Kering Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Cengkok (*Melastoma malabathricum* L.).

- Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 5(1), 10–15. <https://doi.org/10.17728/jatp.v5i1.33>
- Salamah, N., Guntarti, A., Lestari, P. A., & Gandjar, I. G. (2022). Fat Analysis of House Rat (*Rattus tanezumi*) in Meatball Using Gas Chromatography-mass Spectrometry (GC-MS) Combined with Principal Component Analysis. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 33(2), 208–204. <https://doi.org/10.22146/ijp.1781>
- Silalahi, L. R., Rizky, Sari, P., Dhesyana, & Atsari Dewi, I. (2017). Testing of Free Fatty Acid (FFA) and Colour for Controlling the Quality of Cooking Oil Produced by PT. XYZ. *Industria: Jurnal Teknologi Dan Manajemen Agroindustri*, 6(1), 41–50. <https://doi.org/10.21776/ub.industria.2017.006.01.6>
- Solarbesain, F. H. P., & Pudjihastuti, I. (2019). Pengaruh Komposisi Pada Minyak Telon Terhadap Uji Indeks Bias Dengan Meinggunakan Refraktometer Tipe Way Abbe. *Metana*, 15(1), 32. <https://doi.org/10.14710/metana.v15i1.20330>
- Sudjadi, & Rohman, A. (2018). *Analisis Derivat Babi*. Analisis Derivat Babi. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Surahmaida, S., Sudarwati, T. P. L., & Junairiah, J. (2019). Analisis GCMS terhadap Senyawa Fitokimia Ekstrak Metanol *Ganoderma lucidum*. *Jurnal Kimia Riset*, 3(2), 147. <https://doi.org/10.20473/jkr.v3i2.12060>
- Tahya, C. Y., & Karnelasatri, K. (2021). Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis and α -Glucosidase Inhibitory Activity of n-Hexane Extract of Bilajang Bulu (*Merremia Vitifolia*) Leaves. *Walisongo Journal of Chemistry*, 4(2), 162–172. <https://doi.org/10.21580/wjc.v4i2.9427>
- Tarigan, J., & Simatupang, D. F. (2019). Uji Kualitas Minyak Goreng Bekas Pakai Dengan Penentuan Bilangan Asam, Bilangan Peroksida Dan Kadar Air. *Conference: Ready Star - Regional Development Industry & Health Science, Teknologi And Art Of Life*.

Formulasi dan Uji Antibakteri Formula Optimum Gel Kitosan Kulit Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) sebagai Antiakne

Optimization of Vannamei Shrimp (Litopenaeus vannamei) Skin Chitosan Gel Formula as Anti-Acne

Naniek Widyaningrum*, Fita Nadia Septiana, Rina Wijayanti dan Thendi Abdul Arief

Departemen Farmasi, Universitas Islam Sultan Agung, Semarang, Indonesia

*Corresponding author: naniek@unissula.ac.id

Diterima: 16 September 2023; **Disetujui:** 5 November 2024; **Dipublikasi:** 30 November 2024

Abstrak

Acne vulgaris atau jerawat merupakan infeksi pori-pori kulit yang tersumbat dengan lemak yang berlebih. Faktor lainnya disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme *Propionibacterium acnes*. Kitosan kulit udang vannamei diketahui berfungsi sebagai antibakteri. Kitosan kulit udang vannamei dapat diformulasikan dalam bentuk sediaan gel untuk mendapatkan kenyamanan dan kemudahan dalam penggunaan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui formula optimum sediaan gel kitosan kulit udang vannamei sebagai antiakne. Optimasi formula menggunakan *Simplex Lattice Design* dengan variasi konsentrasi *gelling agent* berupa karbopol dan HPMC. Uji evaluasi fisik sediaan gel dan uji antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* dilakukan. Hasil penelitian formula optimal karbopol dan HPMC diperoleh perbandingan 0.5 : 0.5 dengan persentase (1,25%) dan HPMC (0,725%). Uji evaluasi fisik sediaan gel menunjukkan bahwa sediaan gel memiliki sifat fisik yang baik dengan viskositas 4.616 cps, pH 7.25, dan daya sebar 6.43. Hasil uji antibakteri *Propionibacterium acnes* didapatkan hasil daya hambat dari sampel gel kitosan (20.73 mm $\pm$ 1.33) kuat dan kontrol positif (28.56 mm $\pm$ 0.91) sangat kuat. Formula optimum dengan perbandingan karbopol dan HPMC (0.5:0.5) gel kitosan kulit udang vannamei memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acne* dan memenuhi persyaratan uji sifat fisik.

Kata kunci: Antiakne; Gel; Kitosan; Kulit udang vannamei; *Propionibacterium acnes*; *Simplex Lattice Design*

Abstract

Acne vulgaris or acne is an infection of skin pores blocked with excess fat. Another factor is caused by the activity of the microorganism *Propionibacterium acnes*. Vannamei shrimp shell chitosan is known to function as an antibacterial. Vannamei shrimp shell chitosan can be formulated in gel dosage form for comfort and ease of use. This research aimed to know the optimum formula for vannamei shrimp shell chitosan gel preparation as an anti-acne. Formula optimization using *Simplex Lattice Design* with varying concentrations of gelling agents in carbopol and HPMC. Physical evaluation tests of gel preparations and antibacterial tests against *Propionibacterium acnes* were carried out. The results of research on the optimal carbopol formula and HPMC obtained a ratio of 0.5: 0.5 with a percentage of (1.25%) and HPMC (0.725%). The results of the physical evaluation test of the gel preparation showed that the gel preparation had good physical properties with a viscosity of 4.616, pH of 7.25, and

spreadability of 6.43. The results of the antibacterial test against Propionibacterium acnes showed that the inhibitory power of the chitosan gel sample (20.73 mm) was strong, and the positive control (28.56 mm) was very strong. The optimum vannamei shrimp shell chitosan gel formula has antibacterial activity against Propionibacterium acne and meets the physical properties test requirements.

Keywords: *Antiacne; Chitosan; Gel; Propionibacterium acne; Simplex lattice design; Vannamei shrimp skin*

1. PENDAHULUAN

Jerawat atau secara medis disebut *acne vulgaris* merupakan infeksi pori pori kulit yang tersumbat lemak berlebih karena kelenjar minyak pada kulit terlalu aktif. Peradangan pada kulit yang bercampur dengan keringat dan polusi dapat menimbulkan bintik hitam atau komedo. Komedo yang terinfeksi oleh bakteri dapat menyebabkan jerawat. Faktor lainnya yang mencetuskan jerawat adalah aktivitas mikroorganisme *Propionibacterium acnes*. *Propionibacterium acnes* berperan dalam memecah asam lemak bebas dari lipid kulit dengan menghasilkan lipase. Asam lemak tersebut yang mengakibatkan inflasi jaringan, ketika terhubung dengan sistem imun yang mendorong terjadinya jerawat (Afifi *et al.*, 2018); (Fatimah *et al.*, 2021)

Jerawat banyak terjadi pada remaja muda berusia 12-25 tahun mencapai 85%. *Acne vulgaris* di Indonesia termasuk dalam penyakit kulit dengan prevalensi tertinggi (Legiawati *et al.*, 2023). Kitosan diketahui memiliki fungsi sebagai antibakteri. Kitosan yang terdapat dalam kulit udang mengandung protein berkisar antara 25-40%, kitin 15-20%, dan kalsium karbonat 45-50% (Setha *et al.*, 2019). Kitosan merupakan bahan bioaktif dapat diaplikasikan dalam bidang farmasi, pertanian, lingkungan dan industri. Menurut penelitian (Suherman *et al.*, 2018) kulit udang vannamei memiliki aktivitas antibakteri *Propionibacterium acnes* pada konsentrasi 7% dengan diameter daya-hambat 17,26 mm. Kitosan dapat menghambat pertumbuhan mikroba karena berbentuk membran berpori yang dapat menyerap air pada makanan.

Pemanfaatan kitosan dari kulit udang vannamei masih sangat terbatas dalam bentuk formulasi maupun sebagai bahan tambahan. *Simplex Lattice Design* (SLD) yang terdapat pada software *Design Expert* merupakan sebuah metode yang digunakan untuk optimasi formula sehingga diperoleh komponen formula dengan jumlah proporsi komposisi bahan dalam suatu campuran (Ermawati *et al.*, 2017). Optimasi dilakukan sebagai tahapan penting dalam formulasi untuk memudahkan dalam preparasi sediaan (Nursal *et al.*, 2022). Inovasi dalam bentuk sediaan diperlukan untuk memaksimalkan fungsi kitosan sebagai antibakteri. Sediaan gel dipilih karena kenyamanan dan kemudahan untuk diaplikasikan, dibersihkan, dan memberi sensasi dingin dengan penyebaran dan pelepasan yang baik di kulit sehingga diharapkan meningkatkan daya minat masyarakat (Hastuty *et al.*, 2018).

Penelitian sebelumnya belum pernah melakukan optimasi formula gel kitosan dari kulit udang vannamei menggunakan karbopol dan HPMC. Formula dikembangkan melalui metode *simplex lattice design* untuk menentukan formula lebih cepat, efektif, dan menghindari

pemilihan formula secara *trial and error* (Dwiputri *et al.*, 2022). Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan formula optimum gel kitosan dari kulit udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dan melakukan evaluasi sifat fisik serta aktivitas antibakterinya terhadap *Propionibacterium acnes*.

2. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan pendekatan kuantitatif analitik. Desain penelitian menggunakan *post-test only control group design*.

2.1. Alat dan bahan

Peralatan yang digunakan berupa destilator, *waterbath*, oven, mikroskop, pH meter, viskometer *Brookfield*, media agar, cawan petri, autoklaf, batang ose, *thermolyne* dan software *Design Expert versi 12*.

Bahan yang digunakan yaitu udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*), tetrasiklin, karbopol 940, HPMC, propilen glikol, metil paraben, asam asetat (glacial), TEA, NaOH (emsure), NaCl 0,9%, aquades, *nutrient agar*, *Mc. Farmaland* 0,5 (komposisi larutan standar *Mc. Farland* 0,5 adalah BaCl_2 0,048 M sebanyak 0,5 mL dan H_2SO_4 0,18 M sebanyak 9,5 mL), *Mueller Hinton Agar* dan bakteri *Propionibacterium acnes*.

2.1. Preparasi sampel kulit udang vannamei

Sampel kulit udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) diperoleh dari pasar ikan segar Pasar Kobong Semarang, Jawa Tengah. Sortasi basah dilakukan untuk membersihkan kotoran yang masih menempel. Menurut Suherman *et al.*, (2018) kulit udang dicuci dengan air, dikeringkan selama 30 menit dibawah sinar matahari secara langsung, kulit udang kering diblender sampai menjadi serbuk, dan diayak dengan ayakan 100 mesh.

2.2. Pembuatan kitosan kulit udang vannamei

Pembuatan kitosan kulit udang vannamei mengikuti penelitian Suherman *et al.*, (2018) melalui tiga tahap yaitu deproteinasi, demineralisasi, dan deasetilasi. Deproteinasi untuk menghilangkan protein dari kulit udang dengan menimbang serbuk kulit udang 200 gram, ditambah larutan NaOH 3%, dilarutkan dalam 1000 mL aquades, dipanaskan menggunakan *thermolyne* selama 2 jam suhu 80°C sambil diaduk, kemudian disaring dan dicuci hingga pH netral menggunakan air. Demineralisasi dilakukan dengan menambahkan HCl 1 M sebanyak 84 mL ke serbuk hasil deproteinasi, dilarutkan dalam 1000 mL aquades, dipanaskan 1 jam suhu 75°C sambil diaduk, lalu disaring, dicuci sampai pH netral, dan dikeringkan dalam oven suhu 80°C selama 24 jam. Tahapan ini menghasilkan kitin. Deasetilasi kitin dilakukan dengan menambahkan NaOH 50% dilarutkan dalam 1000 mL aquades, dipanaskan 1 jam suhu 75°C sambil diaduk, disaring, dicuci sampai pH netral atau mendekati pH 7, dan dikeringkan dalam oven selama 24 jam, sehingga diperoleh kitosan.

2.3. Optimasi formula gel kitosan kulit udang vannamei

Formula sediaan gel kitosan kulit udang vannamei merupakan modifikasi penelitian Fahrezi *et al.*, (2021). Konsentrasi kitosan yang digunakan sebesar 7% dibuat dengan menimbang 7 gram serbuk kitosan kulit udang vannamei dalam larutan asam asetat 1% 10 mL. Sejalan penelitian Wulansari *et al.* (2024) bahwa formula optimum ditentukan menggunakan SLD, sehingga didapatkan variasi konsentrasi *gelling agent* (Tabel 1).

Tabel 1. Komposisi formula gel kitosan kulit udang vannamei menggunakan metode *Simplex Lattice Design* (SLD).

Bahan	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)	F4 (%)	F5 (%)	F6 (%)	F7 (%)	F8 (%)
Kitosan	7	7	7	7	7	7	7	7
Karbopol	1,625	1,25	0,5	0,875	2	0,5	1,25	2
HPMC	0,5875	0,725	1	0,8625	0,45	1	0,725	0,45
Propilen Glikol	10	10	10	10	10	10	10	10
Metil paraben	1	1	1	1	1	1	1	1
TEA	5	5	5	5	5	5	5	5
Akuades ad	100	100	100	100	100	100	100	100

2.4. Pembuatan gel kitosan kulit udang vannamei

Karbopol dan HPMC dikembangkan dalam aquades panas, ditambah TEA sampai karbopol mengembang sempurna lalu ditambahkan metil paraben yang telah dilarutkan dalam propilen glikol dan diaduk hingga homogen, membentuk basis gel. Kitosan 7% dilarutkan dalam asam asetat 4,6%, dibasakan dengan NaOH sampai pH 5. Larutan kitosan dimasukkan secara bertahap ke dalam basis gel sambil diaduk hingga terbentuk gel kitosan yang homogen.

2.5. Evaluasi fisik sediaan gel kitosan kulit udang vannamei

2.5.1. Uji organoleptis

Uji organoleptis dilakukan berdasarkan panca indra dengan mengamati secara visual sediaan meliputi warna, bau, dan tekstur (Paramita *et al.*, 2021).

2.5.2. Uji homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan mengoleskan sediaan gel diatas kaca objek, kemudian diratakan dengan cara ditutup dengan kaca preparat. Homogenitas sediaan gel dilihat dari ada tidaknya butiran tidak merata (Sarlina *et al.*, 2017).

2.5.3. Uji pH

Uji pH dilakukan menggunakan alat pH meter dengan cara melarutkan sediaan gel dengan akuades 1 g sediaan gel, kemudian masukkan stik pH meter ke sampel yang sudah disiapkan dan diamkan sampai pH meter stabil (Purwaningsih *et al.*, 2014).

2.5.4. Uji viskositas

Uji viskositas menggunakan viskometer Brookfield menggunakan spindle no 4 dengan kecepatan 12 rpm.

2.5.5. Uji daya sebar

Uji daya sebar dilakukan dengan cara gel ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian diletakkan dikaca berskala, lalu ditutup menggunakan kaca transparan, kemudian tambahkan beban 50, 100, 150, dan 200 gram secara bergantian dan didiamkan selama 60 detik lalu ukur diameter penyebarannya (Sayuti, 2015).

2.5.6. Uji daya lekat

Uji daya lekat dilakukan dengan menimbang gel kitosan kulit udang vannamei 0,5 gram. Meletakkan gel diatas kaca objek yang telah ditentukan luasnya. Meletakkan gelas objek yang lain diatas gel dan memberikan beban 1 kg selama 5 menit, setelah itu beban diangkat dan ditarik tuas sambil stopwatch dinyalakan. Waktu dihitung saat tuas ditarik dan dihentikan ketika kaca objek terlepas (Fahrezi *et al.*, 2021).

2.6. Pengujian aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* pada sediaan gel menggunakan metode difusi cakram yang mengacu pada penelitian (Suherman *et al.*, 2018b) dengan tahapan berikut:

2.6.1. Penyiapan kultur bakteri

Propionibacterium acnes digoreskan pada masing-masing permukaan Medium Nutrient Agar (NA) lalu inkubasi pada inkubator suhu 37°C selama 24 jam.

2.6.2. Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri uji yang berumur 24 jam *Propionibacterium acnes* diambil 1 ose kemudian disuspensikan dengan larutan fisiologis NaCl 0,9 % steril hingga setara dengan larutan standar Mc. Farland 0,5 (Komposisi larutan standar *Mc. Farland* 0,5 adalah BaCl₂ 0,048 M sebanyak 0,5 mL dan H₂SO₄ 0,18 M sebanyak 9,5 mL).

2.6.3. Pembuatan kontrol positif

Larutan kontrol positif menggunakan Tetrasiklin dibuat dalam konsentrasi 30 ppm.

2.6.4. Pengujian gel kitosan kulit udang vannamei metode difusi cakram

Media *Mueller Hinton Agar* sebanyak 15 mL dalam cawan petri ditambahkan 0,5 ml suspensi bakteri uji, dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Setelah memadat, diletakkan kertas cakram yang telah dicelupkan kedalam gel kitosan kulit udang vannamei pada konsentrasi 7% b/v dan kontrol negatif basis gel 1% b/v serta kontrol positif Tetrasiklin 30 ppm (%). Diatur jarak kertas cakram dari pinggir cawan petri minimal 20 mm kemudian diinkubasi pada suhu 37°C dalam inkubator selama 1 x 24 jam. Daerah hambatan yang terbentuk diukur dengan jangka sorong. Perlakuan ini dilakukan 3 kali dan diambil rata-ratanya.

2.6.5. Pengamatan dan pengukuran diameter hambatan

Pengamatan dan pengukuran diameter zona hambatan dilakukan setelah masa inkubasi 1x24 jam pada suhu 37°C. Zona hambatan yang terbentuk pada media diukur dengan menggunakan jangka sorong.

2.7. Analisis data

Optimasi sediaan gel dilakukan menggunakan metode *Simplex Lattice Design* versi 12. Analisis data menggunakan SPSS. Uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas menggunakan *Levene test*. Uji komparatif menggunakan *One-Way Anova*, data yang tidak terdistribusi normal dan tidak homogen menggunakan *Kruskal wallis*, *Mann whitney*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Udang vannamei diperoleh dari Semarang, Jawa Tengah dilakukan determinasi di Laboratorium Taksonomi Hewan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Hasil uji determinasi nomor 46/UN37.1.4.5/KM/2023 diperoleh terbukti bahwa sampel kulit udang vannamei diuji berasal dari hewan udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan family Penaeidae, dan genus *Litopenaeus*.

Kadar air kulit udang vannamei setelah pengeringan diperoleh 8,7%. Hasil uji kadar air memenuhi standar mutu yang baik yaitu mengandung kadar air kurang dari 10% (Agustina *et al.*, 2018).

3.1. Optimasi formula gel kitosan kulit udang vannamei

Optimasi formula gel bertujuan untuk mendapatkan formula optimum yang memenuhi kriteria parameter sifat fisik yang baik. Formula optimum diperoleh menggunakan metode *Design Expert* versi 12 dengan *Simplex Lattice Design* (SLD). Metode ini menghasilkan 8 formula gel dengan variasi perbandingan karbopol dan HPMC.

3.1.1. Uji organoleptis

Karakteristik fisik sediaan gel diamati berdasarkan warna, bau, tekstur, dan homogenitas sediaan gel yang telah dibuat (Tabel 2, Gambar 1). Hasil pengamatan 8 formula dengan variasi basis karbopol dan HPMC (Gambar 1), diperoleh warna sediaan gel yang dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi karbopol dan HPMC, semakin tinggi kadar karbopol maka gel akan terlihat bening (Sari *et al.*, 2020). Warna putih kecoklatan dari sediaan berasal dari warna ciri khas kitosan kulit udang. Secara organoleptis, sediaan gel kualitas yang baik, ditandai semua formula yang tidak berbau, homogen secara fisik, bertekstur gel semi solid, dan memiliki warna merata (Tambunan & Sulaiman, 2018). Respon berupa pH, viskositas, daya sebar (Tabel 3) digunakan dalam rentang kriteria untuk menentukan formula optimum.

3.1.2. Uji pH

Pengujian pH pada sediaan gel untuk mengetahui kesesuaian pH terhadap kulit agar mudah diterima serta memperoleh keamanan sediaan saat digunakan agar tidak terjadi iritasi kulit (Paramita *et al.*, 2021). Parameter standar pH yang baik dan menurut standar SNI 16-4399-1996 yaitu 4,5 – 8,0 (Purwaningsih *et al.*, 2014). Hasil pengujian pH pada 8 formula sediaan gel (Tabel 3) menunjukkan hasil yang memenuhi persyaratan. Persamaan hasil SLD pada uji pH (Tabel 4) menunjukkan penambahan masing-masing karbopol (+7.49) dan HPMC (+ 7.01) memberikan efek positif terhadap peningkatan pH, semakin besar komponen karbopol dan HPMC maka pH sediaan gel akan semakin tinggi. Menurut (Pertiwi *et al.*, 2020) pH kulit yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kulit kering dan bersisik. Berdasarkan hasil analisis ANOVA didapatkan nilai *lack of fit* ($p>0,05$) yang berarti persamaan yang diperoleh sudah benar. Grafik *countour plot* (Gambar 2) menunjukkan variasi konsentrasi karbopol dan HPMC mempengaruhi hasil pH sediaan.

Tabel 2. Hasil uji fisik organoleptis (warna, bau, tekstur, dan homogenitas) sediaan, gel kitosan kulit udang vannamei.

Formula	Warna	Bau	Tekstur	Homogenitas
Formula 1	Putih kecoklatan	Tidak ada	Semi solid	Homogen
Formula 2	Putih kecoklatan	Tidak ada	Semi solid	Homogen
Formula 3	Putih kecoklatan	Tidak ada	Semi solid	Homogen
Formula 4	Putih kecoklatan	Tidak ada	Semi solid	Homogen
Formula 5	Putih kecoklatan	Tidak ada	Semi solid	Homogen
Formula 6	Putih kecoklatan	Tidak ada	Semi solid	Homogen
Formula 7	Putih kecoklatan	Tidak ada	Semi solid	Homogen
Formula 8	Putih kecoklatan	Tidak ada	Semi solid	Homogen



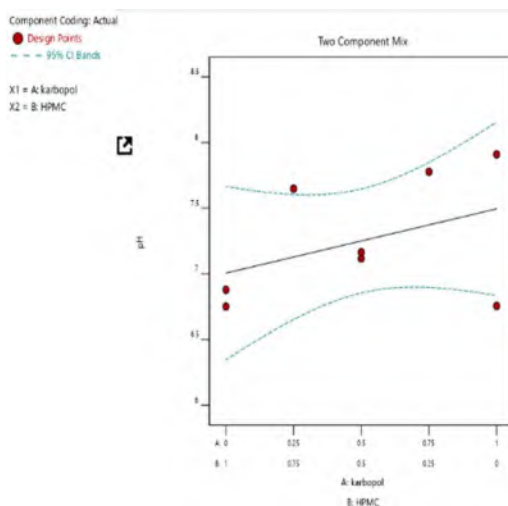
Gambar 1. Sediaan gel kitosan kulit udang vannamei.

3.1.3. Uji viskositas

Hasil viskositas pada 8 formula (Tabel 3) diperoleh hasil yang bervariasi berkisar 4167-15800 cps. Hal ini menunjukkan perbedaan konsistensi variasi basis yang berbeda-beda saat digunakan. Viskositas berhubungan dengan kemampuan benda cair untuk mengalir. Viskositas berbanding terbalik dengan daya sebar, semakin tinggi viskositas maka daya sebar akan

menurun. Viskositas juga menentukan lama daya lekat sediaan pada kulit, sehingga sediaan dapat melekat dengan baik (Tambunan & Sulaiman, 2018b).

Kriteria viskositas pada SLD dimasukkan dalam rentang 4000-40000 cps (Forestryana *et al.*, 2020). Penelitian ini tidak melakukan uji rheologi. Persamaan (Tabel 4) menunjukkan penambahan masing-masing pada basis karbopol (+4775.29) dan HPMC (+11725.29) dan interaksi keduanya (+5273.88) memberikan efek positif terhadap peningkatan viskositas sediaan gel yang berarti semakin besar karbopol dan HPMC maka akan semakin besar pula viskositas sediaan.



Gambar 2. Grafik *countour plot* uji pH pada *Simplex Latice Design* (SLD).

Tabel 3. Hasil sifat fisik (ph, viskositas, daya sebar, dan daya lekat) gel kitosan kulit udang vannamei.

Formula	pH	Viskositas	Daya Sebar	Daya Lekat
Formula 1	7.777	15.800 cps	6.45 cm	1.72 detik
Formula 2	7.117	7.817 cps	6.5 cm	1.00 detik
Formula 3	6.879	10.300 cps	6.75 cm	1.08 detik
Formula 4	7.648	7.483 cps	7 cm	1.09 detik
Formula 5	7.910	4.167 cps	7 cm	1.03 detik
Formula 6	6.751	12.550 cps	6.8 cm	1.06 detik
Formula 7	7.165	7.717 cps	6.45 cm	1.00 detik
Formula 8	6.756	4.783 cps	7 cm	1.22 detik

Kriteria viskositas pada SLD dimasukkan dalam rentang 4000-40000 cps (Forestryana *et al.*, 2020). Penelitian ini tidak melakukan uji rheologi. Persamaan (Tabel 4) menunjukkan penambahan masing-masing pada basis karbopol (+4775.29) dan HPMC (+11725.29) dan interaksi keduanya (+5273.88) memberikan efek positif terhadap peningkatan viskositas sediaan gel yang berarti semakin besar karbopol dan HPMC maka akan semakin besar pula viskositas sediaan. Hal ini sejalan dengan penelitian Tambunan & Sulaiman (2019), penggunaan kombinasi antara HPMC dan karbopol dapat meningkatkan viskositas sediaan.

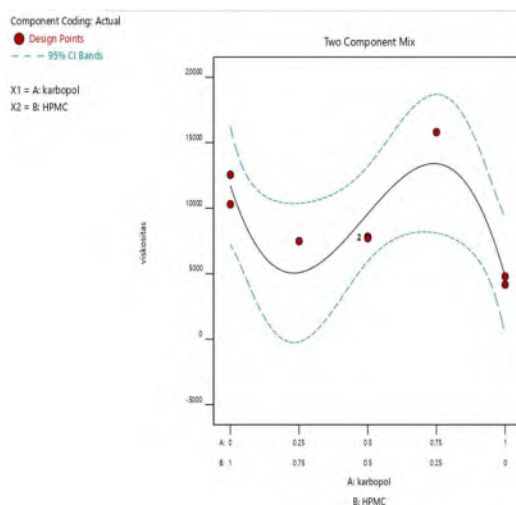
sedangkan penambahan karbopol dan HPMC dua kali lipat akan memberikan efek positif terhadap viskositas sediaan dengan nilai koefisien (+62890.67) yang berarti dua kali lipat karbopol dan HPMC dapat menaikkan viskositas sediaan gel. Hasil analisis ANOVA pada parameter *lack of fit* menunjukkan ($p < 0.05$) yang berarti persamaan yang diperoleh kurang tepat. Grafik *countour plot* (Gambar 3) menunjukkan variasi konsentrasi karbopol dan HPMC mempengaruhi hasil viskositas sediaan.

Tabel 4. Persamaan matematis respon gel kitosan kulit udang vannamei berdasarkan metode *Simplex Latice Design* (SLD). Keterangan: Y = Respon, A = Komponen Karbopol, B = Komponen HPMC.

Respon	Persamaan Matematika
Viskositas	$Y = 4475.00 (A) + 11425.00 (B) - 732.00 (AB) + 81680.00$
pH	$Y = 7.49 (A) + 7.01 (B)$
Daya Sebar	$Y = 7.00 (A) + 6.78 (B) - 1.65 (AB) - 3.53 (A-B)$

3.1.4. Uji daya sebar

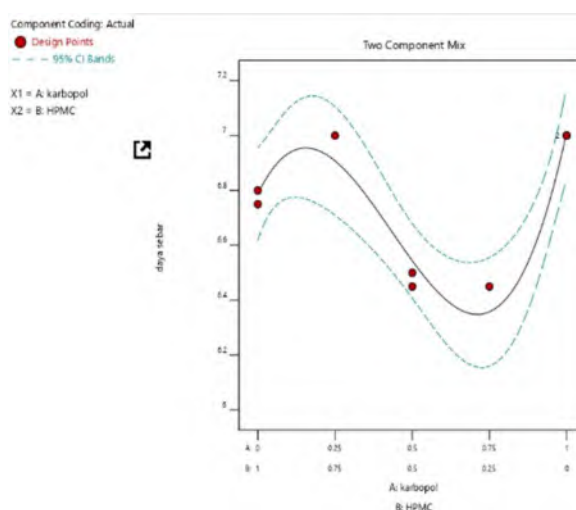
Uji daya sebar dilakukan dengan menggunakan kaca skala untuk mengetahui seberapa baik sediaan gel yang menyebar dipermukaan kulit, karena dapat mempengaruhi absorpsi obat dan kecepatan pelepasan zat aktif ditempat pemakaiannya (Paramita *et al.*, 2021). Parameter daya sebar gel yang baik adalah 5 - 7 cm (Sayuti, 2015). Hasil dari 8 formula uji daya sebar sediaan gel didapatkan hasil yang memenuhi kriteria dalam sediaan uji daya sebar. Perbedaan variasi konsentrasi terjadi karena karbopol dan HPMC memiliki koefisien positif yang memengaruhi peningkatan daya sebar sediaan (Tambunan & Sulaiman, 2019). Suatu sediaan yang baik dan lebih disukai pengguna bila sediaan dapat menyebar dengan mudah dikulit dan nyaman digunakan (Paramita *et al.*, 2021).



Gambar 3. Grafik *countour plot* viskositas pada *Simplex Latice Design* (SLD).

Berdasarkan persamaan hasil SLD pada uji daya sebar (Tabel 4). Persamaan tersebut menunjukkan penambahan masing-masing karbopol (+7.01) dan HPMC (+6.79) yang

memberikan efek positif terhadap peningkatan daya sebar, semakin tinggi kadar karbopol dan HPMC maka akan semakin rendah daya sebar sediaan karena semakin kental (Tambunan & Sulaiman, 2019). Interaksi antara karbopol dan HPMC memberikan efek negatif (-1.42) yang menunjukkan campuran keduanya dapat menurunkan daya sebar gel, sedangkan 56 penambahan karbopol dan HPMC dua kali lipat memberikan efek negatif (-3.53) sehingga didapatkan daya sebar sediaan gel tidak mengalami peningkatan. Hal ini sejalan dengan penelitian Nurwulan & Indra (2017), yang menunjukkan bahwa efek dan interaksi karbopol dengan HPMC menghasilkan nilai negatif, artinya mampu menurunkan daya sebar. Hasil analisis ANOVA pada parameter *lack of fit* menunjukkan ($p < 0.05$) yang berarti persamaan yang diperoleh kurang tepat. Grafik *countour plot* (Gambar 4) menunjukkan variasi konsentrasi karbopol dan HPMC mempengaruhi hasil daya sebar sediaan.



Gambar 4. Grafik *countourplot* daya sebar pada *Simplex Latice Design* (SLD).

3.1.5. Uji daya lekat

Daya lekat yang baik memungkinkan obat tidak mudah terlepas dan semakin lama melekat pada kulit, sehingga dapat menghasilkan efek yang diinginkan. Hasil uji daya lekat gel kitosan (Tabel 3) menunjukkan daya lekat yang baik dan memenuhi persyaratan daya lekat yaitu lebih dari 1 detik (Yusuf *et al.*, 2018). Hasil respon daya lekat pada 8 formula memenuhi persyaratan (Tabel 6).

Analisis *Design Expert* menggunakan metode SLD dilakukan dengan cara memasukkan data angka yang secara otomatis akan menganalisis perbandingan yang tepat sehingga diperoleh formula optimum. SLD dibuat dalam rentang kriteria yang akan muncul hasil berupa formula optimum dengan ditandai nilai *desirability* 1,000. Nilai *desirability* formula optimum yang diperoleh dengan perbandingan karbopol 0,5 dan HPMC 0,5 sebesar 1,000. Nilai *desirability* yaitu nilai yang menunjukkan formula yang didapat sudah sesuai yang dikehendaki (Ramadhani *et al.*, 2017).

3.2. Konfirmasi formula optimum

Uji konfirmasi formula optimum ini dilakukan untuk memastikan bahwa hasil evaluasi fisik formula optimum sesuai dengan prediksi oleh metode *Simplex Lattice Design* (SLD). Pengujian ini dilakukan dengan pengulangan melalui replikasi sediaan berdasarkan formula optimum yang dihasilkan dari prediksi metode SLD. Konfirmasi formula optimum dilakukan dengan pembuatan sediaan gel kitosan kulit udang vannamei menggunakan formula optimum dengan perbandingan karbopol 0,5 dan HPMC 0,5 (Tabel 5). Hasil rata-rata uji fisik mendekati nilai prediksi metode *Simplex Lattice Design* (SLD) dan memenuhi kriteria pH, viskositas dan daya sebar yang baik.

Tabel 5. Hasil uji sifat fisik formula optimum gel kitosan kulit udang vannamei berdasarkan *Simplex Lattice Design* (SLD).

Uji fisik	Hasil uji			Rata-rata	Nilai prediksi
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
Viskositas	4900	4783	4167	4616.666	7767
pH	7.467	7.192	7.117	7.25	7.25
Daya sebar	6.9	6.3	6.1	6.1	6.47

3.3. Daya hambat sediaan gel kitosan kulit udang vannamei terhadap *P. acnes*

Hasil pengukuran daya hambat sediaan gel kitosan kulit udang vannamei terhadap *Propionibacterium acnes* (Tabel 6, Gambar 5) menggunakan metode difusi agar dengan media *Mueller Hinton Agar*.

Pengujian daya hambat aktivitas antibakteri sediaan gel kitosan kulit udang vannamei formula optimum dengan perbandingan karbopol 0.5 dan HPMC 0.5, kontrol negatif (basis) dan kontrol positif (Tetrasiklin) dilakukan menggunakan metode difusi agar. Uji ini mengamati zona hambat pertumbuhan bakteri ditandai dengan zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram. Hasil rata-rata pengukuran diameter zona hambat sediaan gel konsentrasi 7% sebesar 20,73 mm yang termasuk kategori kuat, sedangkan pada kontrol positif memiliki diameter zona hambat 28,56 mm $\pm$ 0.91 termasuk dalam kategori sangat kuat dan pada kontrol negatif tidak terdapat aktivitas zona hambat aktivitas antibakteri (Suherman *et al.*, 2018). Menurut Davis & Stout, (1971), interpretasi daerah hambatan pertumbuhan antimikroba memiliki respon yang bervariasi, dengan diameter zona hambat 20 mm respon dikategorikan sebagai respon sangat kuat. Pada penelitian ini, sediaan gel kitosan kulit udang vannamei memenuhi kriteria yang ditetapkan karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*.

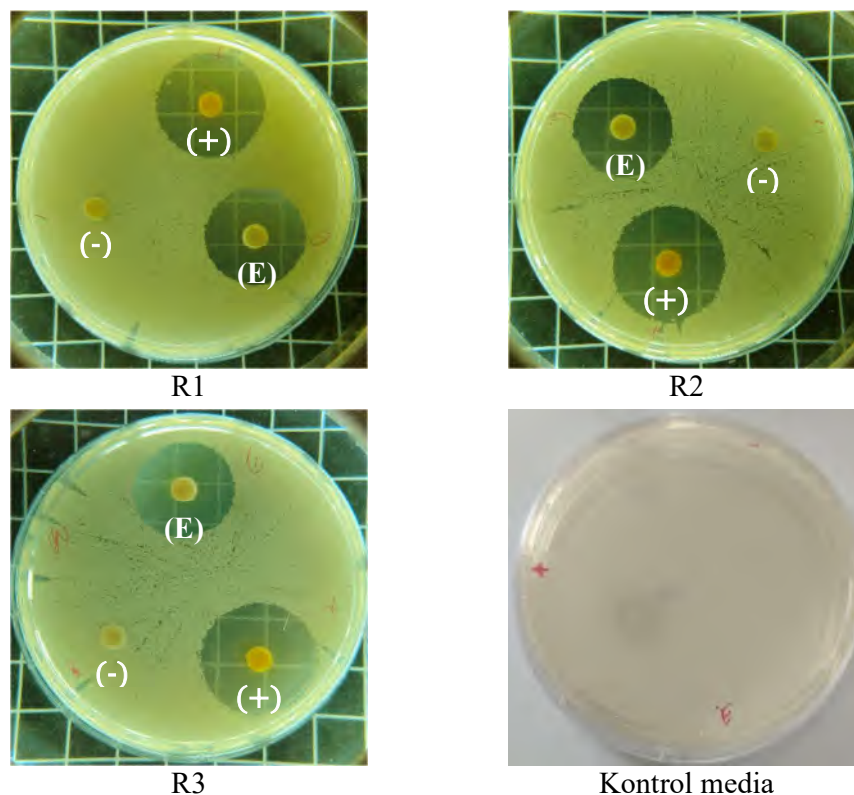
Tabel 6. Hasil uji aktivitas antibakteri formula optimum 0.5:0.5 gel kitosan kulit udang vannamei menggunakan metode *Simplex Lattice Design* (SLD).

	Gel Kitosan	Kontrol (-)	p-Value	Kontrol (+)	p-Value
Daya Hambat	20.73 $\pm$ 1.33	0	0.034	28.56 $\pm$ 0.91	0.046
Kontrol Media	Keterangan: Terdapat pertumbuhan bakteri				

Hasil analisis (Tabel 6) menunjukkan perbedaan bermakna antara sediaan gel kitosan dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif. Hal ini menunjukkan sediaan gel kitosan kulit udang dan kontrol positif memiliki aktivitas antibakteri terhadap

Propionibacterium acnes, kitosan kulit udang memiliki kandungan enzim lisozim dan gugus amino polisakarida yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan efisiensi daya hambat kitosan terhadap bakteri (Riski & Sami, 2015).

Kontrol positif yang digunakan yaitu Tetrasiklin yang merupakan antibiotik selektif untuk bakteri uji dan terdapat daya hambat terhadap bakteri uji. Tetrasiklin termasuk antibiotik penghambat sintesis protein mikroba dan menghambat proses pembentukan dinding sel yaitu saat proses pembentukan peptidoglikan, tetrasiklin juga banyak diyakini mengganggu permeabilitas membran organisme (Buldani *et al.*, 2017).



Gambar 5. Daya hambat gel kitosan kulit udang vannamei terhadap *Propionibacterium acnes*. Keterangan: sampel gel kitosan (E), kontrol positif = tetrasiklin (+), kontrol negatif = basis (-), Replikasi 1 (R1), Replikasi 2 (R2), Replikasi 3 (R3).

4. KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbandingan konsentrasi optimal karbopol dan HPMC dalam sediaan gel kitosan dari kulit udang vannamei sebesar 0.5 : 0.5 dengan persentase konsentrasi masing-masing karbopol 1,25% dan HPMC 0,725%. Uji evaluasi fisik menunjukkan bahwa sediaan gel memiliki sifat fisik yang baik, dengan viskositas 4.616 cps, pH 7.25, dan daya sebar 6.43. Formula optimum sediaan gel kitosan dari kulit udang vannamei sebagai antiakne terbukti memiliki potensi dalam menghambat bakteri *Propionibacterium acnes*. Hasil uji daya hambat menunjukkan rata-rata zona hambat sampel sebesar 20.73 mm ±

1.33, yang termasuk kategori kuat, sementara kontrol positif menghasilkan zona hambat sebesar $28.56 \text{ mm} \pm 0.91$ yang termasuk kategori sangat kuat.

DEKLARASI KONFLIK KEPENTINGAN

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifi, R., Erlin, E., & Rachmawati, J. (2018). Uji Anti Bakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi L) Terhadap Zona Hambat Bakteri Jerawat *Propionibacterium Acnes* Secara In Vitro. *Quagga: Jurnal Pendidikan Dan Biologi*, 10(01), 10–17. <https://doi.org/10.25134/QUAGGA.V10I01.803>
- Agustina, S., Swantara, I. M. D., & Suartha, I. N. (2018). Isolasi Kitin, Karakterisasi, dan Sintesis Kitosan Dari Kulit Udang. *Jurnal Kimia*, 9(2), 271–278.
- Buldani, A., Yulianti, R., & Soedomo, P. (2017). Uji efektivitas ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber Cassumunar Roxb.*). *Prosiding Seminar Nasional IPTEK Terapan (SENIT) 2017*, 229–238.
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay. I. Factors influencing variability and error. *Applied Microbiology*, 22(4), 659–665. <https://doi.org/10.1128/aem.22.4.659-665.1971>
- Dwiputri, A. S., Pratiwi, L., & Nurbaeti, S. N. (2022). Optimasi Formula Sabun Organik Sebagai Scrub Kombinasi VCO, Palm Oil, Dan Olive Oil Menggunakan Metode *Simplex Lattice Design*. *Jurnal Mahasiswa Fakultas Kedokteran Untan*, 6(1), 1–14.
- Ermawati, D.E., Martodihardjo, S., Sulaiman, Tns., Farmasi, P., Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNS, F., Farmasetika, B., & Farmasi UGM, F. (2017). Optimasi Komposisi Emulgator Formula Emulsi Air Dalam Minyak Jus Buah Stroberi (*Fragaria vesca L.*) dengan Metode *Simplex Lattice Design Optimization* Emulgator Composition Of Water In Oil Emulsion Of Strawberry Fruits (*Fragaria vesca L.*) Based On Simplex Lattice Design Method. In *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research* (Vol. 02).
- Fahrezi, M. A., Nopiyanti, V., & Priyanto, W. (2021). Formulasi dan Uji Aktivitas Tabir Surya Gel Kitosan Menggunakan Karbopol 940 dan HPMC K100 sebagai *Gelling Agent*. *Jurnal Farmasi*, 10(1), 17–23. <https://doi.org/10.37013/JF.V10I1.116>
- Fatimah, Si., Prasetyaningsih, Y., & Hermina, Y. B. (2021). Uji Efektivitas Ekstrak Gel Lidah Buaya (Aloe Vera) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Forte Journal*, 1(2), 95–102. <https://doi.org/10.51771/fj.v1i2.120>
- Forestryana, D. Yuliani, & Aristha Novyra Putri. (2020). Optimasi Formula Sediaan Krim Ekstrak Etanol 95% Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb.*). *Borneo Journal of Pharmascientech*, 4(1), 22–31. <https://doi.org/10.51817/BJP.V4I1.274>
- Hastuty, H. S. B., Purba, P. N., & Nurfadillah, E. (2018). Uji Stabilitas Fisik Formulasi Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata L.*) Dengan *Gelling Agent* Cmc-Na Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 230840. *Gema Kesehatan*, 10(1), 22–27. <https://doi.org/10.47539/gk.v10i1.5>
- Legiawati, L., Halim, P. A., Fitriani, M., Hikmahrachim, H. G., & Lim, H. W. (2023). Microbiomes in Acne Vulgaris and Their Susceptibility to Antibiotics in Indonesia: A Systematic Review and Meta-Analysis. In *Antibiotics* (Vol. 12, Issue 1). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12010145>

- Nurwulan, A., & Indra, P. T. (2017). Optimasi basis gel ekstrak etanol daun sirsak (*Annona Muricata L*) berbasis kombinasi HPMC dan karbopol sebagai anti jerawat menggunakan faktorial desain. 1–12.
- Nursal, F.K., & N., & Putri, D. A. (2022). Formulasi dan Uji Kestabilan Fisik Suspensi Poliherbal Bawang Putih, Jahe Merah dan Lemon. In *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research* (Issue 03).
- Paramita, H. E., Ambari, Y., & Wahyu Ningsih, A. (2021). Artikel Penelitian Formulation and Stability Test Of Gel Hand Sanitizer Fruit Ethanol Extract Cucumber (*Cucumis sativus L.*). *J-PhAM Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 110(2), 2654–8364.
- Pertiwi, D., Desnita, R., & Luliana, S. (2020). Pengaruh pH Terhadap Stabilitas Alpha Arbutin dalam Gel Niosom. *Majalah Farmaseutik*, 16(1), 91. <https://doi.org/10.22146/farmaseutik.v16i1.49446>
- Purwaningsih, S., Salamah, E., & Budiarti, T. A. (2014). Formulasi Skin Lotion dengan Penambahan Karagenan dan Antioksidan Alami dari *Rhizophora mucronata* Lamk. *Jurnal Akuatika*, 5(1), 55–62.
- Ramadhani, R. A., Riyadi, D. H. S., Triwibowo, B., & Kusumaningtyas, R. D. (2017). Review Pemanfaatan Design Expert untuk Optimasi Komposisi Campuran Minyak Nabati sebagai Bahan Baku Sintesis Biodiesel. *Jurnal Teknik Kimia Dan Lingkungan*, 1(1), 11–16. <https://doi.org/10.33795/jtkl.v1i1.5>
- Riski, R., & Sami, F. J. (2015). Formulasi krim anti jerawat dari nanopartikel kitosan cangkang udang windu (*Penaeus monodon*). *Jf Fik Uinam*, 9860(10), 1–6.
- Sari, C. M. A., Andriani, D., & Wahyudi, D. (2020). Optimasi Kombinasi HPMC Dan Carbopol Dalam Formula Sediaan Gel Hand Sanitizer Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica Papaya L.*) Serta Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 3(2), 241–252. <https://doi.org/10.36387/jifi.v3i2.563>
- Sarlina, S., Razak, A. R., & Tandah, M. R. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Ekstrak Daun Sereh (*Cymbopogon nardus L. Rendle*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Jerawat. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 3(2), 143–149. <https://doi.org/10.22487/j24428744.0.v0.i0.8770>
- Sayuti, N. A. (2015). Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata L.*) Formulation and Physical Stability of *Cassia alata L.* Leaf Extract Gel. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 5(2), 74–82.
- Setha, B., Rumata, F., & Sillaban, B. (2019). Karakteristik Kitosan Dari Kulit Udang Vaname Dengan Menggunakan Suhu dan Waktu Yang Berbeda dalam Proses Deasetilasi. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 22(3), 498–507.
- Suherman, B., Latif, M., Teresia, S., & Dewi, R. (2018). Potensi Kiotsan Kulit Udang Vannamei (*Litopenaus vannamei*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococakramus epidermis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Propionibacterium agnes*, dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi C. *Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Indonesia Timur Makassa*, 14(1), 116–127.
- Tambunan, S., & Sulaiman, T. N. S. (2018). Formulasi Gel Minyak Atsiri Sereh Dengan Basis HPMC dan Karbopol. *Majalah Farmaseutik*, 14(2), 87–95.
- Tambunan, S., & Sulaiman, T. N. S. (2019). Gel Formulation of Lemongrass Essential Oil with HPMC and Carbopol Bases. *Majalah Farmaseutik*, 14(2), 87. <https://doi.org/10.22146/farmaseutik.v14i2.42598>
- Wulansari, E., Siswanto, A., & Diniatik, D. (2024). Formulasi Tea Tree Oil sebagai Pengawet dalam Masker Gel Peel-Off Ekstrak Etanol Beras Merah (*Oryza rufipogon* Griff.). *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 9(1), 11. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v9i1.78349>

Yusuf, Anna. L., Harun, N., & Nurawaliyah, E. (2018). Uji efektivitas gel ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) sebagai antijamur *Malassezia furfur*. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(2), 62–67. <https://doi.org/DOI:10.26874/kjif.v5i2.130>

Nanoemulgel Formulation of Marjoram (*Origanum majorana* L.) Essential Oil with Potential as Anti-Inflammatory and Anti-Hyperuricemia

Ungsari Rizki Eka Purwanto*, Mighfar Syukur, Tris Harni Pebriani and Anissa Nursofiatun

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi, Semarang, Indonesia

*Corresponding author: ungsaririzki@stifar.ac.id

Received: September 8, 2023; **Accepted:** November 5, 2024; **Published:** December 3, 2024

Abstract

The prevalence of hyperuricemia has increased in several countries, including Indonesia. Uric acid will continuously be deposited in the form of crystals in the joint cavity, which can cause inflammation. One natural ingredient potentially treating this problem is marjoram essential oil (*Origanum majorana* L.). Marjoram essential oil (MEO) contains various terpene compounds that have the potential to reduce pro-inflammatory mediators and uric acid levels. Terpene compounds are known to be able to be delivered through the skin, but their penetration levels are still very limited. The development of pharmaceutical preparations such as nanoemulgel is needed to enhance the penetration of the active components in marjoram essential oil. This research aimed to optimize the components that make up nanoemulgel, namely polysorbate 80 surfactants and PEG 400 co-surfactant, to produce a nanoemulgel preparation of marjoram essential oil with optimum physical characteristics and potential as an anti-inflammatory and anti-hyperuricemia in the rat. The optimum composition of Polysorbate 80 surfactant and PEG 400 co-surfactant is 9.958: 6.042. It resulted in the optimal formula for MEO 1% nanoemulsion, which had an average globule size of 22.94 nm with a polydispersity index of 0.65 and MEO 2% nanoemulsion: 142.4 nm with a polydispersity index of 0.91. MEO nanoemulsion could be dispersed into a gel base and become an MEO nanoemulgel, which has inhibitory power against xanthine oxidase, whereas 2% MEO nanoemulgel has an IC 50 of 25.30 $\pm$ 2.57 ppm and has greater anti-inflammatory power than 1% MEO nanoemulgel.

Keywords: Hyperuricemia; Inflammation; Marjoram; Nanoemulgel

1. INTRODUCTION

Hyperuricemia is a condition that increases uric acid levels in the blood. Deposits of monosodium urate crystals in the joint cavity can cause inflammation, known as gout (Manampiring, 2011). The prevalence of hyperuricemia in several countries tends to increase (Kumar et al., 2018; Liu et al., 2015; Roman, 2019). The prevalence of hyperuricemia has shown a notable increase in several countries over recent years. According to Kumar et al. (2018), there is a growing trend in hyperuricemia rates, with an observed increase of approximately 2% per year in specific populations. Liu et al. (2015) report that hyperuricemia prevalence has risen significantly, particularly in Asian countries, where rates have escalated from around 8% to over 20% in specific demographics within a decade.

Additionally, Roman (2019) highlights that some regions, particularly in North America and Europe, have experienced increases in hyperuricemia rates, indicating a worrying trend that correlates with rising obesity rates and changes in dietary habits. Based on the results of a 2015 study also show that Indonesia has the second-highest prevalence of hyperuricemia at 18% in the Southeast Asia Region (Smith, 2015). According to Indonesian basic health research (Riskesdas), in 2018, the prevalence of joint disease due to acute and chronic hyperuricemia reached 19.77% for the age group over 65 years (Balitbangkes, 2018).

Colchicine and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs are clinical treatments used for inflammation in gout, while allopurinol and febuxostat are used to treat hyperuricemia. On the other hand, long-term use can cause adverse side effects, such as gastrointestinal disorders, a high risk of liver and kidney damage, and the risk of cardiovascular disease (Ghang et al., 2022; Yokose et al., 2019). Thus, finding new, natural, and safe drugs for anti-hyperuricemia and anti-inflammatory therapy in gout is very important. One example of a natural product that has the potential to overcome this problem is marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oil.

While the term "natural" does not inherently guarantee safety, marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oil may offer a more favorable safety profile than conventional anti-hyperuricemic and anti-inflammatory medications. Historically, marjoram has been used for centuries in traditional medicine, indicating its relative safety when used appropriately (Bouyahya et al., 2021). Unlike many conventional gout medications, such as nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) or corticosteroids, which can cause gastrointestinal issues, kidney damage, or elevated blood pressure, marjoram essential oil is associated with fewer adverse effects. The phytochemicals found in marjoram, particularly carvacrol and thymol, possess anti-inflammatory and antioxidant properties without the harmful side effects common to synthetic drugs (Gheitasi et al., 2021).

Marjoram essential oil (MEO) contains terpene compounds, such as sabinene, p-cymene, thymol, and components with a high percentage are carvacrol and terpinene-4-ol (Aytaç, 2020; Busatta et al., 2017; Raina & Negi, 2012). Research shows that MEO can act as an anti-inflammatory agent by reducing pro-inflammatory agents such as TNF- α , IL-1 β , IL-6, and IL-10, which are high in hyperuricemia sufferers (Arranz et al., 2015; Sah et al., 2016; Zha et al., 2022). Another study showed that the administration of carvacrol, one of the largest components of MEO, showed results similar to allopurinol treatment. The study showed that treatment with carvacrol (at doses of 20 and 50 mg/kg) resulted in a significant decrease in serum uric acid and C-reactive protein (CRP) levels, similar to the effects of allopurinol treatment. While both treatments effectively lowered these markers, the higher dose of carvacrol (50 mg/kg) had a slightly more pronounced effect on serum uric acid levels. Additionally, no signs of kidney damage were observed in the carvacrol-treated groups (Riaz et al., 2022).

Some of these studies indicate that MEO has the potential to be developed into pharmaceutical preparations. One of the preparations developed for MEO is nanoemulgel with the consideration that the target delivery of the active substance is to reduce inflammation and

uric acid, which accumulates in joint fluid and bones. One of the formulations developed for MEO is nanoemulgel, which was chosen for its ability to improve the targeted delivery of active hydrophobic compounds. Nanoemulgel combines the benefits of a nanoemulsion, which enhances the solubility and bioavailability of hydrophobic substances, with a gel base that provides a cooling effect to soothe pain. The essential oil in the nanoemulsion also acts as a permeation enhancer, facilitating deeper penetration of the active compounds into the skin, allowing them to reach the joint fluid and bones where uric acid accumulates and inflammation occurs (Bilia et al., 2014).

Terpinene-4-ol and carvacrol have a molecular weight of less than 400 Daltons and a Log P of less than 1-4 (Dionisio et al., 2018). Therefore, they have great potential for drug delivery through the skin. Apart from that, developing nanoemulgel preparations has several advantages, such as reducing the risk of drug interactions, reducing the risk of first-pass metabolism, and applying the preparation directly to the inflammatory area (Priani, 2022).

Surfactants and co-surfactants are two essential components in nanoemulsion preparations. Polysorbate 80 and PEG 400 are known to have been successful as surfactants and co-surfactants in producing nanoemulsion preparations with active ingredients of essential oil. Polysorbate 80 and PEG 400 were chosen as surfactants and co-surfactants based on numerous studies demonstrating their effectiveness in producing stable nanoemulsions with active essential oil ingredients. Polysorbate 80 is crucial for reducing the interfacial tension between oil and water phases, thereby enhancing the stability and solubility of hydrophobic compounds. PEG 400 complements this by acting as a co-surfactant, improving the emulsification process and facilitating better dispersion of the active ingredients. This combination has produced consistent and effective nanoemulsion formulations in various studies, making them essential components for the current nanoemulsion formulation with essential oil as an active pharmaceutical ingredient (Dasawanti et al., 2022; Purwanto, 2021). Solubility tests were conducted in various solvents that can act as surfactants and co-surfactants further to support the selection of these surfactants and co-surfactants. These included Tween 20 as a surfactant and propylene glycol, glycerol, and ethanol as co-surfactants. The results of these solubility tests helped confirm the superior performance of Polysorbate 80 and PEG 400 in enhancing the solubility and stability of MEO.

In this research, optimizing surfactant and co-surfactant concentrations was important to obtain a stable nanoemulsion system. Dispersing the nanoemulsion system into the gelling agent is then carried out to obtain a higher viscosity so that the preparation can be in contact with the skin for longer.

This study aims to evaluate the anti-hyperuricemia and anti-inflammatory efficacy of the optimum nanoemulgel formulation containing marjoram essential oil (MEO) in reducing inflammation. The effectiveness of MEO nanoemulgel preparations as anti-hyperuricemia can then be seen from the concentration of 50% inhibition of xanthine oxidase (IC₅₀) enzyme activity by MEO nanoemulgel preparations in vitro. Furthermore, this will be assessed by

measuring the decrease in inflammation volume in carrageenan-induced rats and comparing it to standard treatments.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Materials

Materials used in this study were marjoram essential oil (Darjeeling, Marjoram Oil Egypt[®] (PSD02485), polysorbate (polysorbate) 80 (Petronas), polyethylene-glycol (Mandakhalikar et al.) 400 (Petronas), aquadest (Multi Kimia Raya Nusantara), DMDM-Hidantoin (Clariant), Triethanolamine (Multi Kimia Raya Nusantara), Carbophol 940 (Dunia Kimia Jaya), Xanthine (Merck), Karagenan (Sigma), Voltaren[®] emulgel, Pirofel[®] gel, Sumifun[®] Arthritis Herbal Gel.

Tools used in this study were gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) Shimadzu GCMS-2010 Plus, spectrophotometer Uv-vis Shimadzu 1280, particle size analyzer (Malvern MAL1275495), viscosimeter Brookfield, pH meter Trans instrument HP 9000, plethysmometer.

2.2. Methods

2.2.1 Solubility test of MEO in pre-emulsion system

The solubility examination commenced by blending 1 mL of MEO with 1 mL of the carrier substance using a vortex mixer. The carriers under consideration include constituent surfactants and cosurfactants, which exhibit potential for use in nanoemulsions. These include polysorbate 80, polysorbate 20, polyethylene-glycol 400, ethanol, propylene-glycol, and glycerin.

In this solubility (or miscibility) test, the ability of marjoram essential oil (MEO) to mix with other components in the pre-emulsion system was assessed visually. After mixing, the absence of phase separation indicates that the MEO is miscible with the other components. While a simple visual observation was used in this case, future studies could incorporate more quantitative methods, such as turbidity measurements or centrifugation, to provide more detailed data on the miscibility of the oil within the system.

2.2.2 Preparation of MOE nanoemulsion

Three primary components are needed to create an emulsion: the oil phase, the aqueous phase, and the surfactant. This study determined surfactants and cosurfactants based on the solubility test results. Polysorbate 80 was chosen as the surfactant, and Polyethylene Glycol 400 as the cosurfactant.

The process involved combining 1% (0.2 mL) of MOE in a 20 mL glass vial, followed by a 5-minute mixing. Subsequently, 16% (3.2 mL) of Smix (Polysorbate 80 and PEG 400) were combined with the oil phase MOE for 5-minute mixing, sonicated for 10 minutes with Branson 2800-MH ultrasonicator (sonication power was 100, frequency was 40 kHz, and amplitude was 42 μ m), and then incubated for 5 minutes in a water bath at 40°C. This procedure was repeated in three cycles. Distilled water was used as the aqueous phase ad 100% (20.0 mL).

The Smix ratio (surfactant: co-surfactant) was optimized within the 1-15% range using Design Expert 10 software.

2.2.3. Evaluation of MOE oil nanoemulsion

2.2.3.1. Measurement of the transmittance value

The transmittance from nanoemulsions was measured at a wavelength of 650 nm using spectrophotometry to assess the clarity of nanoemulsions, with distilled water as the reference (Purwanto, 2021).

2.2.3.2. pH

The pH of nanoemulsion formulations was determined using a pH meter. After pH 4 and pH 7 buffer solutions were calibrated, the electrode was immersed in the preparation, and the recorded pH value was noted (Talegaonkar & Alabood, 2011).

2.2.3.3. Measurement of globule size distribution

The size of nanoemulsion globules was analyzed using a particle size analyzer. A 1-gram sample of nanoemulsion was dissolved in 100 grams of ultrapure water, and 10 mL of the solution was placed in a cuvette for measurement. The size of nanoemulsion globules was analyzed using a particle size analyzer (Malvern MAL1275495) based on the principle of Dynamic Light Scattering (DLS). A 1 mL sample of nanoemulsion was diluted in 100 mL of ultrapure water to prevent multiple scattering effects. Then, 10 mL of the diluted solution was placed in a cuvette for measurement, where the scattered light from the nanoemulsion droplets was analyzed to determine the globule size distribution (Zhao et al., 2021).

2.2.3.4 Zeta potential

Zeta potential measurements were conducted using a zeta sizer. Zeta potential measurements were performed using a Zetasizer Nano ZS (Malvern MAL1275495) based on electrophoretic light scattering (ELS). A 1 mL sample of the nanoemulsion was diluted with ultrapure water to achieve optimal conductivity and prevent particle-particle interactions. The diluted sample was loaded into folded capillary cells (DTS1070) and placed in the instrument. Measurements were conducted at a controlled temperature of 25°C, and each sample was analyzed in triplicate to ensure reproducibility. The zeta potential values, indicating the stability of the nanoemulsion, were recorded and averaged (Zhao et al., 2021).

2.2.4 Fabrication of MOE nanoemulgel

The MEO nanoemulsion was then dispersed into a gel base with the composition carbophol 940 1%, triethanolamine 0.1%, DMDM-Hydantoin 0.03%. Nanoemulgel preparations with drug loading of 1% MEO and 2% MEO were each made five times in replication. Carbopol 940[®] was milled with triethanolamine until the gel mass was formed, and then DMDM Hydantoin was added. 50 mL prepared nanoemulsion was introduced into the 100 grams gel base and stirred gently on low speed until homogeneous.

2.2.5. Physical characterization of MOE nanoemulgel

2.2.5.1. Organoleptic test

Organoleptic testing involves a qualitative assessment of the gel preparation, focusing on observable changes in consistency, color, odor, and uniformity. This assessment was conducted through direct observation, allowing for the evaluation of the physical and sensory characteristics of the gel.

2.2.5.2. pH test

The pH of the gel was measured using a pH meter, with the value recorded after calibration (Talegaonkar & Alabood, 2011).

2.2.5.3. Adhesion test

For the adhesion test, 500 mg of the preparation was placed in two bepolysorbate slides and subjected to a 1.0 kg load for 5 minutes. The time it took for the slides to detach was recorded. This method is considered reliable for evaluating the adhesive properties of gel formulations, as it provides a quantitative measure of adhesion under controlled conditions (Purwanto et al., 2023).

2.2.5.4. Spreadability test

Spreadability was assessed by placing 0.5 grams of the gel on a glass cylinder for 1 minute to allow for a consistent application period and minimize variability in the results. The gel spread was measured on all four sides using a calibrated ruler, although a more precise instrument could be used in future studies to enhance accuracy. A 200-gram weight was added to the load until a constant weight was achieved. While we initially measured the spread linearly, presenting the results as area increments per time per force could provide a more comprehensive understanding of spreadability. This approach may be considered in subsequent evaluations to offer a more quantitative assessment of the formulation's performance (Bakhrushina, 2022).

2.2.5.5. Viscosity test

Viscosity was determined by placing the sample in a Brookfield viscometer with an immersed spindle set to a speed of 50 rpm.

2.2.6. Anti-hyperuricemia in vitro testing

Isolation of xanthine oxidase enzyme from 250 mL of fresh cow's milk. 250 mL of fresh cow's milk is heated to 30°C. 81.68 g NaCl was added and centrifuged at 4000 rpm for 30 minutes. The supernatant obtained was fractionated using 40% ammonium sulfate and stored at 40C. Centrifuged at 4000 rpm for 75 minutes using a centrifuge. The supernatant and residue obtained were used as a sample of the xanthine oxidase enzyme. Dissolve the residual fraction using 0.05 M phosphate buffer pH 7.5 to 250 mL.

All samples produced were measured for their inhibitory activity against xanthine oxidase. Tests were carried out using a spectrophotometer under aerobic conditions. 1 mL of

the test solution with a concentration of (20-50 ppm) was added with 2.9 mL of 0.05 M phosphate buffer, pH 7.5, and 0.1 mL of xanthine oxidase enzyme solution in phosphate buffer, pH 7.5. After pre-incubation for 15 minutes, the reaction was started by adding 2 mL of 12 ppm xanthine substrate solution. The mixed solution was then incubated for 30 minutes. The reaction was stopped by adding 1 mL of 1 N HCl and then measuring the absorption at the maximum wavelength determined using a spectrophotometer. Testing has done five replications. One unit of xanthine oxidase is the enzyme required to produce 1 mM uric acid per minute at the optimum temperature. The formula can calculate the inhibitory activity of xanthine oxidase:

$$\text{Percentage of Inhibition (\%)} = \frac{(A-B)-(C-D)}{(A-B)} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

Equation 1. Calculation of the inhibitory activity of xanthine oxidase. Description: Enzyme activity without sample (A), control for A, without sample and enzymes (B), sample activity (C), and activity of the sample without the enzyme (D) (Wahyuni, 2016).

2.2.7. Anti-inflammation in vivo testing

The study was conducted with ethical clearance (EC No. 533/YP-NA/KEPK/STIFAR/EC/ VIII/2023) obtained before the experiments. A total of 25 male white mice were randomly selected and divided into 4 groups, each consisting of five of 3 month old male white mice with a body weight of 200-300 grams. Before being tested, rats were acclimatized for 7 days and fasted for 18 hours while still being given drinking water. On the day of the test, the right rear leg of the rat was smeared according to the following treatment groups:

Negative control group : 200 mg nanoemulgel base

Positive control group : 200 mg Voltaren® Emulgel

Normal control group : Nothing was given

Test group 1 : 200 mg MOE 1% nanoemulgel

Test group 2 : 200 mg MOE 2% nanoemulgel

After treatment, 0.1 ml of carrageenan solution was injected into the right hind leg of all groups except the normal control group. The volume of the right hind leg of mice was measured at 0, 30, 60, and 90 minutes after carrageenan injection (Vt) (Mansouri et al., 2015).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Identification of marjoram essential oil (MEO) content by GC-MS

In the initial research stage, the researcher selected raw materials for marjoram (*Origanum marjorana* L.) essential oil. The percentage of each compound in the marjoram essential oil (MEO) was determined by analyzing the GC-MS chromatogram (Figure 1).

The figure presents the GC-MS spectra of Marjoram Essential Oil (MEO), where each peak corresponds to a different volatile compound present in the oil. The x-axis represents the retention time (in minutes), which indicates the time it takes for each compound to pass through the GC column. In contrast, the y-axis represents the compounds' intensity (or abundance),

showing their relative concentration based on the area under each peak. Each peak in the chromatogram represents a specific compound, which was identified by comparing the mass spectra of the detected compounds with a reference library. By comparing these peaks to known spectra in the database, we confidently identified the compounds in the MEO.

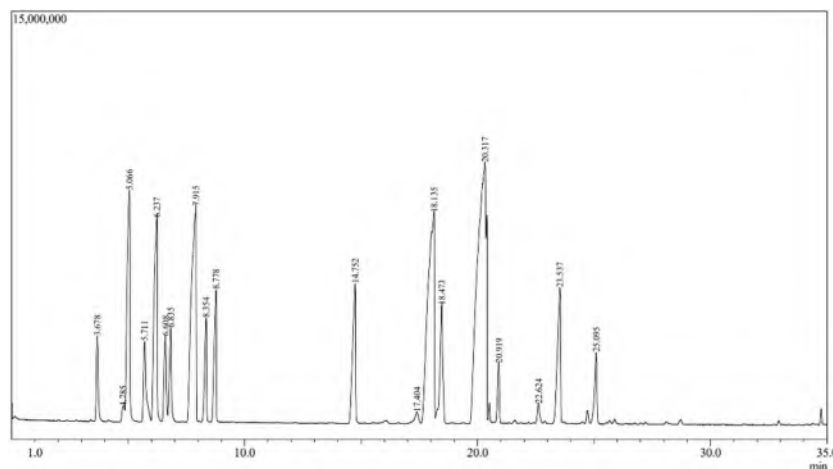


Figure 1. GC-MS spectra of Marjoram Essential Oil (MEO).

Furthermore, the total ion chromatogram (Neoptolemos et al., 2017) reflects the overall composition of the essential oil, confirming that the GC-MS analysis was conducted on MEO. This ensures that the reader can understand that the peaks represent the specific components of MEO, as identified by the retention time and the mass spectra comparison.

The area under each peak (peak area) in the chromatogram corresponds to the relative abundance of the compound, as identified by its retention time and mass spectrum. The ratio of the peak area of each compound to the total peak area of all identified compounds in the sample was calculated to obtain the exact percentage. This method is commonly used to quantify the relative concentration of volatile compounds in essential oils.

MEO essential oil contains 19 components (Table 1), with the 5 largest components being terpinene-4-ol (11.57%), sabinene (10.54%), gamma terpinene (9.60%), trans-sabinene hydrate (9.38%), cis -sabinene hydrate (6.08%).

Previous research shows that marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oil contains some of the largest terpene components such as terpinene-4-ol, sabinene, cis-sabinene trihydrate, gamma-terpinene (Arranz et al., 2015; Busatta et al., 2017). This indicates that the purchased MEO closely matches the characteristics of marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oil, strengthening our confidence in using it for further formulation and testing.

3.2 Optimization Smix (Polysorbate 80 and PEG 400) in nanoemulsion containing MEO

Solubility tests demonstrated that when marjoram oil extract (MOE) was mixed in a 1:1 ratio with various solvents, the results were as follows: the sample was soluble, however turbid

in ethanol; phase separation occurred with glycerol; it was also soluble however turbid in Tween 20; soluble and clear in PEG 400; soluble and clear in Tween 80; and it was not soluble with propylene glycol, resulting in phase separation. Based on these results and previous studies that highlighted the efficacy of polysorbate 80 and PEG 400 as surfactants and co-surfactants in nanoemulsion preparations (Dasawanti et al., 2022; Purwanto et al., 2021), the researchers selected these components for their ability to provide enhanced solubilizing capacity and clarity in the formulation.

Table 1. GC-MS analysis results: detected compounds of meo and their corresponding areas.

Peak	R.Time	Area%	Name of Compound
1	3,678	3,76	.alpha.-pinene, (-)-
2	4,785	0,66	l-.beta.-pinene
3	5,066	10,24	sabinene
4	5,711	3,58	.beta.-myrcene
5	6,237	9,08	(+)-2-carene
6	6,608	3,78	l-limonene
7	6,835	4,14	.beta.-phellandrene
8	7,915	9,60	.gamma.-terpinene
9	8,354	4,54	benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)
10	8,778	5,77	.alpha.-terpinolene
11	14,752	6,08	cis-sabinenehydrate
12	17,404	0,46	4-terpinenyl acetate
13	18,135	9,38	trans sabinene hydrate
14	18,473	5,05	cis-sabinenehydrate
15	20,317	11,57	3-cyclohexen-1-ol (terpinen-4-ol)
16	20,919	2,66	p-menth-2-en-1-ol
17	22,624	0,86	trans-piperitol
18	23,537	5,78	3-cyclohexene-1-methanol
19	25,095	3,02	bicyclogermacrene

Preliminary tests were also carried out to determine the lowest and highest components of the selected Smix (Surfactant and Co-surfactant) mixture. This preliminary test consisted of F1: MEO 1%, Polysorbate 80% 1%, PEG 400 15%, 100% aquadest and F2: MEO 1%, Polysorbate 80% 15%, PEG 400 1% and 100% ad aquadest. High transmittance (more than 90%) is an early indication that the size of the globules produced is nanometer in size. The measurement results of the nanoemulsion preparation in the preliminary test showed that the F2 preparation already had a transmittance of 99.50%.

Stable nanoemulsion preparations were obtained using the simplex lattice design method and the optimization process of polysorbate 80 and PEG 400 components as surfactants and cosurfactants. This simplex lattice design is operated with a software Design Expert 10. This research used 2 independent variables and produced 8 formulas. Each preparation is then tested for the physical characteristics of the preparation (Borges et al., 2018). The preparation with the optimum composition of Polysorbate 80 and PEG 400 will then be dispersed into a gelling agent to become a nanoemulgel preparation.



Figure 2. Formulas 1-8 are used to optimize the Smix (Polysorbate 80 and PEG 400) nanoemulsion of Marjoram Essential Oil (MEO).

Optimization of the Smix nanoemulsion MEO components have the composition: MEO 1%, Polysorbate 80, and PEG 400, each with a range of 1-15%, and distilled water ad 100%. Optimization was carried out using the Simplex Lattice Design method and the help of Design Expert 10 software. Eight running formulas will be created in this optimization (Table 2).

Table 2. Composition of optimized formulation materials for polysorbate 80 and peg 400 and test responses to MEO nanoemulsion preparations.

Formula	MEO	Ingredients (%)		Aq	pH	Test Response		
		Polysorbate 80	PEG 400			Viscosity (cps)	%T	Phase Separation
1	1	1	15	ad 100	5,91	9,66	3,1	0
2	1	15	1	ad 100	5,61	7,08	98,2	0
3	1	8	8	ad 100	5,42	48,3	98,9	0
4	1	4	12	ad 100	5,42	44,4	6,4	0
5	1	1	15	ad 100	5,53	48,3	3,1	0
6	1	12	4	ad 100	5,66	14,8	99	0
7	1	8	8	ad 100	5,55	7,92	99	0
8	1	15	1	ad 100	5,58	9,36	98,3	0

The nanoemulsion preparation (Figure 2) was evaluated for its physical characteristics, including pH, viscosity, % transmittance, and phase separation. All data from test results are entered as response values for each formula in the Design Expert software for statistical analysis (Ivanova & Karelson, 2022) and to determine the most optimal Smix composition. The response criteria were selected based on an objective within the range to obtain maximum viscosity and transmittance values, minimum pH values, and absence of phase separation. The optimum composition of Smix (Polysorbate 80: PEG 400) in MEO nanoemulsion consists of Polysorbate 80: PEG 400 9.958: 6.042 with a desirability of 0.710.

The particle size of the resulting nanoemulsion is crucial because it will affect the drug's release rate to be absorbed. The size distribution of the nanoemulsion globules was analyzed using a Particle Size Analyzer. The average globule size of marjoram essential oil nanoemulsion at a loading dose of 1% MEO was 22.94 nm with a polydispersity index of 0.65 (Figure 3a). With the increase in the essential oil content in the nanoemulsion preparation, the average

particle size produced also increases. The average globule size of marjoram essential oil nanoemulsion at a loading dose of 2% MEO was 142.4 nm with a polydispersity index of 0.91 (Figure 3b). The polydispersity index value represents the homogeneity of the nanoemulsion particles' diameter to describe the nanoemulsion particles' size distribution. Suppose the polydispersity index value is closer to zero. In that case, the particles formed will be more homogeneous (Sinko, 2019), but the particle size distribution value is still considered uniform and homogeneous, namely <0.7 (Prihantini et al., 2020).

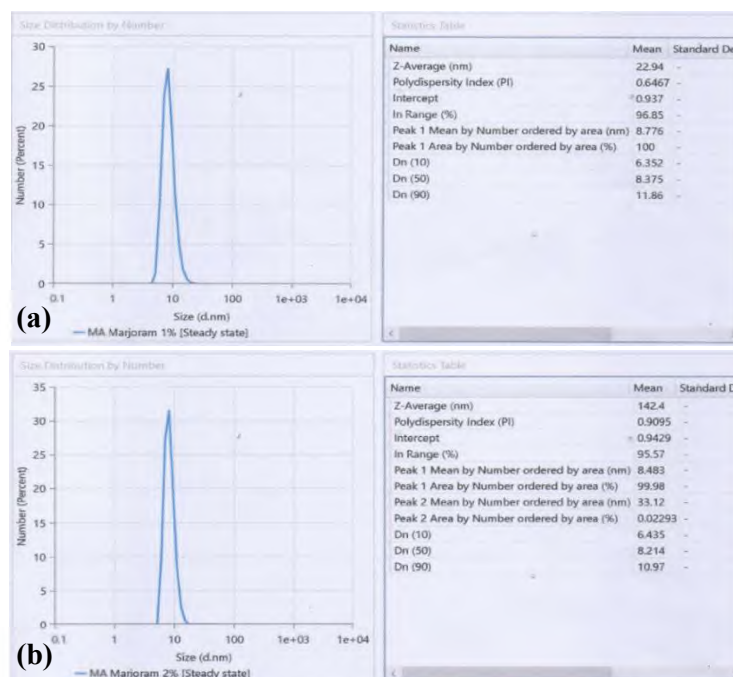


Figure 3. The average globule size of optimum MEO nanoemulsion. *Description:* Loading drug MEO 1%: 22.94 nm with a polydispersity index of 0.65 (a). Loading drug MEO 2%: 142.4 nm with a polydispersity index of 0.91 (b).

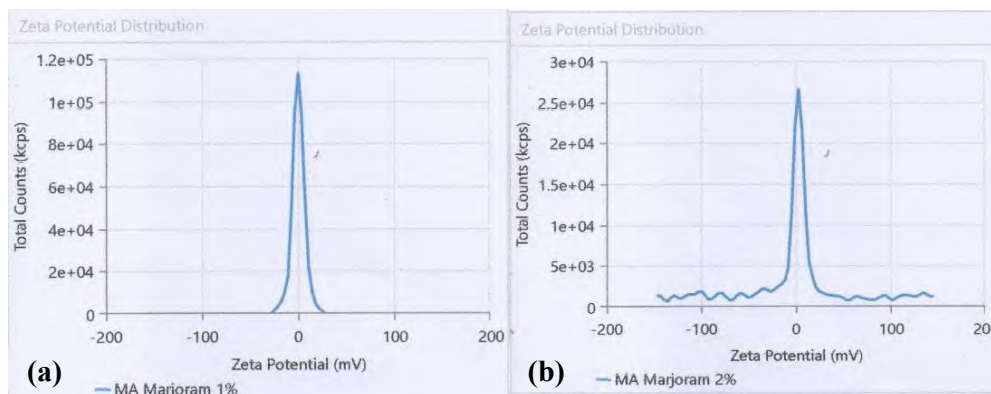


Figure 4. The zeta potential of optimum MEO nanoemulsion. *Description:* Loading drug MEO 1%: 22.94 nm with a potential zeta of 0.1533 mV (a). Loading drug MEO 2%: 142.4 nm with a potential zeta of -1.022 mV (b).

The zeta potential of the nanoemulsion was measured to determine the nanoemulsion's surface charge properties related to the nanoparticles' electrostatic interactions. The particle composition and the particle dispersion medium affect the zeta potential. The zeta potential value describes the optimization of the repulsion or attraction of the particles. A good zeta potential value for nanoemulsion preparations is more than +30mV (Maurya et al., 2021). However, the zeta potential measurement results for the nanoemulsion (Figure 4) showed a value of 0.1533 mV for 1% MEO loading dose (Figure 4a) and -1.022 mV for 2% MEO loading dose (Figure 4b). This may be influenced by the surfactant used in the nanoemulsion formula, namely Polysorbate 80, because Polysorbate 80 is a nonionic surfactant.

3.3 Physical characteristics MEO nanoemulsion and nanoemulgel

Previous research showed that terpinene-4-ol and carvacrol, compounds in MEO, can cross the skin membrane after topical administration. However, the amount that can cross the membrane is still very limited, with a Tmax of 39 minutes and an AUC of 5.31 $\mu\text{g}\cdot\text{hour}/\text{ml}$ for the terpinene-4-ol and tmax components. 33 minutes and AUC 0.230 $\mu\text{g}\cdot\text{jam}/\text{ml}$ for the carvacrol component (Chooluck et al., 2012; Mason et al., 2017).

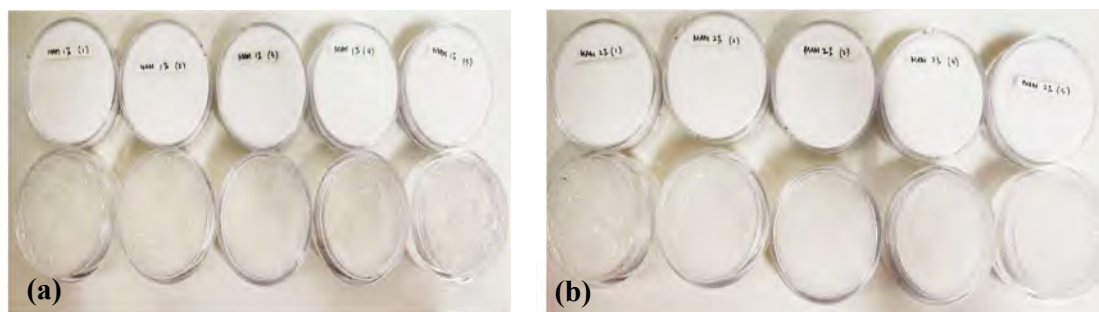


Figure 5. Nanoemulgel formulations with marjoram essential oil (MEO). *Description:* (a) Nanoemulgel containing 1% MEO, and (b) Nanoemulgel containing 2% MEO. These formulations demonstrate varying concentrations of marjoram essential oil as the active ingredient, highlighting potential differences in physical properties or performance based on essential oil content.

The development of nanoemulgel is a solution to this problem. Nanoemulsions are known to increase the penetration of drugs administered percutaneously (Yang et al., 2017). The presence of surfactants and co-surfactants helps increase penetration through the skin (Shaker et al., 2019). The nanoemulsion preparation has a low viscosity, so a gelling agent is added to form a nanoemulgel during its development. Nanoemulgel has a higher viscosity. Therefore, it can increase the product contact time when applied to the skin (Sengupta & Chatterjee, 2017).

The MEO nanoemulsion was then dispersed into a base gel (Figure 5) with the composition carbophol 940 1%, triethanolamine 0.1%, DMDM-Hydantoin 0.03%. Nanoemulgel preparations with drug loading MEO 1% and MEO 2% were replicated five times each (Figure 4). MEO 1% nanoemulgel has a pH of 5.49 ± 0.45 , spreadability of 4.81 ± 0.37 cm,

and adhesion power of $1,76 \pm 0,32$ seconds. While MEO 2% nanoemulgel have pH of $4,85 \pm 0,21$; spreadability of $4,76 \pm 0,52$ cm; adhesion power of $2,44 \pm 0,30$ seconds The MEO nanoemulgel was then tested for its anti-hyperuricemia activity in vitro and anti-inflammatory activity in vivo.

3.4 Anti-hyperuricemia in vitro testing

Testing of antihyperuricemia activity in vitro refers to previous studies by (Wahyuni, 2016). Testing of xanthine oxidase inhibitory activity was carried out to determine the inhibitory power of MEO nanoemulgel on the xanthine oxidase enzyme, which can convert xanthine into uric acid. Variations in the concentration of the nanoemulgel used range from 20-50 ppm. Pirofel gel 0.5® (piroxicam 0.5%) and Sumifun Arthritis Herba Cream® were used as comparison samples. The selection of Pirofel gel 0.5® (piroxicam 0.5%) and Sumifun Arthritis Herba Cream® as positive controls in our study was based on their efficacy in treating inflammatory conditions, particularly arthritis-related. Piroxicam, a nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID), functions by inhibiting cyclooxygenase (COX) enzymes, thus reducing the production of pro-inflammatory mediators in hyperuricemia. This mechanism is similar to our experimental formulation, which aims to reduce inflammation and pain through comparable pathways.

Table 3. Test results for determining xanthine oxidase inhibitory activity.

Sample	IC50 (ppm)
Nanoemulgel MEO 1%	$67,72 \pm 9,89$
Nanoemulgel MEO 2%	$25,30 \pm 2,57$
Sumifun Arthritis Cream	$54,98 \pm 3,21$
Pirofel Gel 0,5%	$15,18 \pm 1,42$

Similarly, Sumifun Arthritis Herba Cream® incorporates natural ingredients known for their anti-inflammatory properties in hyperuricemia therapy, providing a dual mechanism of action that complements the effects of our formulation. By utilizing these positive controls, we aim to benchmark the effectiveness of our MEO nanoemulsion against recognized treatments, ensuring that our results can be contextualized within the existing therapeutic landscape for inflammatory conditions.

The absorbance of each solution in the xanthine oxidase inhibition activity test was measured at a wave of 277.5 nm using a UV-Vis spectrophotometer. The in vitro anti-hyperuricemia testing results of preparations (Table 3) show that the preparation Pirofel Gel 0.5® (containing piroxicam 0.5%) has the most significant xanthine oxidase inhibitory power. Piroxicam gel has been known to be used to treat joint pain due to gouty arthritis (arthritis caused by the buildup of uric acid crystals in the joints). Nanoemulgel MEO 1% also has the lowest xanthine oxidase enzyme inhibitory power (indicated by the highest IC50 level). However, nanoemulgel MEO 2% has greater inhibitory power and can surpass the marketed preparation, namely Sumifun Arthritis Herba Cream®.

3.5 Anti-inflammation in vivo testing

The anti-inflammatory activity test of the MAM nanoemulgel preparation aimed to determine the ability of the preparation as an anti-inflammatory agent, which was described in the decrease in the volume of edema of the paws of white rats induced by 1% carrageenan. 100 mg of the preparation was applied to the feet of rats. The volume of leg edema was measured with a plethysmometer.

The anti-inflammatory activity test was carried out on 4 groups, namely 2 dose groups (MAM 1% and MAM 2%) compared with a negative control in the form of a gel base and a positive control in the form of an anti-inflammatory gel preparation that is already on the market, namely Voltaren Gel. Based on preliminary testing, it was found that 2 variants of MAM nanoemulgel doses showed anti-inflammatory activity. The measurement results (Figure 5) show that 2% MAM nanoemulgel produces a better anti-inflammatory effect than the 1% MAM variant, which is indicated by a faster reduction in inflammatory volume.

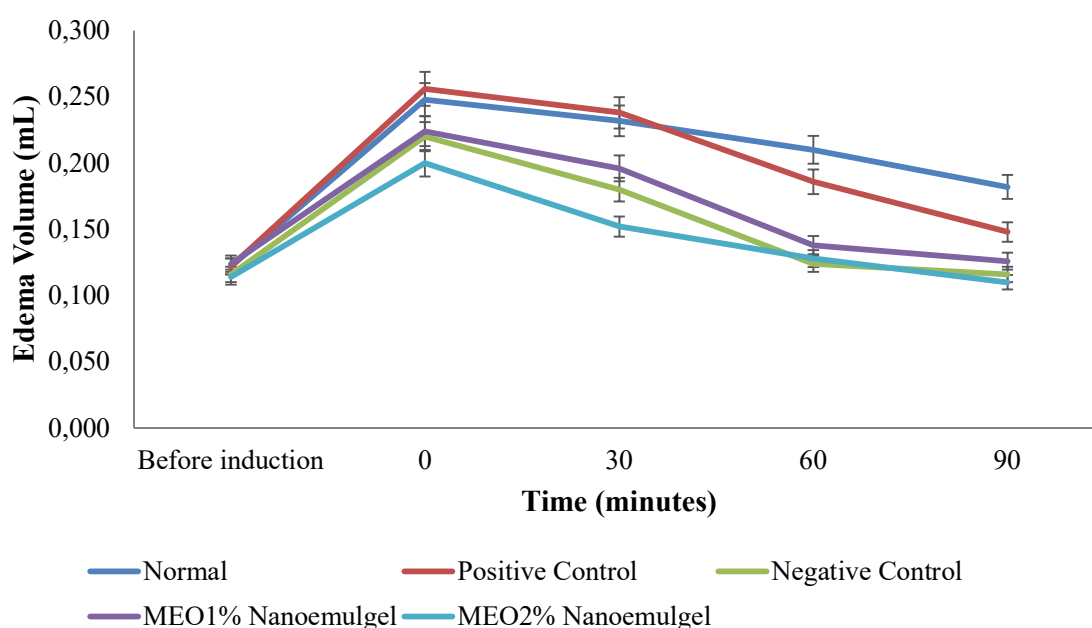


Figure 5. The graph of rat edema volume in anti-inflammatory activity test.

The variable 'before induction' refers to the average paw volume of the rats before they were induced with carrageenan. Following this, each group received its respective treatment. The time point labeled '0 minutes' represents the paw volume immediately after the carrageenan injection, marking the onset of edema. The subsequent measurements of edema volume were taken at 30 and 60 minutes post-injection to monitor the progression and response to the treatments over time.

The analysis showed that the anti-inflammatory effect of MEO nanoemulgel was dose-dependent. The larger the dose MEO was used, the inhibition of edema in the feet was also more significant. Based on statistical results, each group had a significant difference ($p < 0.05$) from the negative control, indicating that MOE nanoemulgel has anti-inflammatory activity.

4. CONCLUSION

A novel nanoemulsion gel incorporating marjoram essential oil has been effectively created. The choice of the best formulation depended on each component's physical and chemical attributes. The optimal ratio of Polysorbate 80 surfactant to PEG 400 co-surfactant was 9.958:6.042. The study found that the most effective formulation for 1% MEO nanoemulsion had an average particle size of 22.94 nm with a polydispersity index (PDI) of 0.65. The 2% MEO nanoemulsion had a particle size of 142.4 nm with a PDI of 0.91. When dispersed into a gel base, the MEO nanoemulsion forms a nanoemulgel, demonstrating xanthine oxidase inhibition. The 2% MEO nanoemulgel showed an IC₅₀ of 25.30±2.57 ppm and exhibited stronger anti-inflammatory activity than the 1% MEO nanoemulgel.

Additional research, such as an irritation test, stability test, and clinical assessments, including trials involving both animals and humans, are required to ascertain the efficacy of this preparation for treating inflammation and hyperuricemia via topical application.

ACKNOWLEDGEMENT

This research was part of a grant from the Ministry of Research, Technology and Higher Education 2023. The authors thank the Directorate General of Higher Education for funding this research (contract number 182/E5/PG.02.00.PL/2023). The authors would also like to thank all the Laboratory Units of Yayasan Pharmasi Semarang staff for their support in completing this research.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflicts of interest.

REFERENCES

- Arranz, E., Jaime, L., López de las Hazas, M. C., Reglero, G., & Santoyo, S. (2015). Supercritical fluid extraction is an alternative process to obtain essential oils from marjoram and sweet basil with anti-inflammatory properties. *Industrial Crops and Products*, 67, 121-129. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.012>
- AytaÇ, E. (2020). Comparison Essential Oil Contents Origanum Majorana L. Obtained by Clevenger and SFE. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 48(3), 239-244. <https://doi.org/10.15671/hjbc.514042>
- Bakhrushina, E. O., Anurova Maria N., Zavalniy Michael S., Demina Natalia B., Bardakov Alexander I., Krasnyuk Ivan I. (2022). Dermatologic Gels Spreadability Measuring Methods Comparative Study. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 14(1), 164-168. <https://doi.org/10.22159/ijap.2022v14i1.41267>
- Balitbangkes. (2018). Laporan Nasional Riskesdas 2018. In. Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. <https://repository.badankebijakan.kemkes.go.id/id/eprint/3514/>
- Bilia, A. R., Guccione, C., Isacchi, B., Righeschi, C., Firenzuoli, F., & Bergonzi, M. C. (2014). Essential oils loaded in nanosystems: a developing strategy for a successful therapeutic approach. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 651593.

- <https://doi.org/10.1155/2014/651593>
- Borges, R. S., Keita, H., Ortiz, B. L. S., Dos Santos Sampaio, T. I., Ferreira, I. M., Lima, E. S., de Jesus Amazonas da Silva, M., Fernandes, C. P., de Faria Mota Oliveira, A. E. M., da Conceicao, E. C., Rodrigues, A. B. L., Filho, A., Castro, A. N., & Carvalho, J. C. T. (2018). Anti-inflammatory activity of nanoemulsions of essential oil from *Rosmarinus officinalis* L.: in vitro and in zebrafish studies. *Inflammopharmacology*, 26(4), 1057-1080. <https://doi.org/10.1007/s10787-017-0438-9>
- Bouyahya, A., Chamkhi, I., Benali, T., Guaouguaou, F.-E., Balahbib, A., El Omari, N., Taha, D., Belmehdi, O., Ghokhan, Z., & El Menyiy, N. (2021). Traditional use, phytochemistry, toxicology, and pharmacology of *Origanum majorana* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 265, 113318. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113318>
- Busatta, C., Barbosa, J., Cardoso, R. I., Paroul, N., Rodrigues, M., Oliveira, D. d., Oliveira, J. V. d., & Cansian, R. L. (2017). Chemical profiles of essential oils of marjoram (*Origanum majorana*) and oregano (*Origanum vulgare*) obtained by hydrodistillation and supercritical CO₂. *Journal of Essential Oil Research*, 29(5), 367-374. <https://doi.org/10.1080/10412905.2017.1340197>
- Chooluck, K., Singh, R. P., Sathirakul, K., & Derendorf, H. (2012). Dermal pharmacokinetics of Terpinen-4-ol following topical administration of *Zingiber cassumunar* (plai) oil. *Planta Med*, 78(16), 1761-1766. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1315262>
- Dasawanti, Y., Reveny, J., & Sumaiyah, S. (2022). Formulation And Evaluation Of Nanoemulgel Clove Leaf Oil (*Syzygium aromaticum*) (L.) Merr & Perry As Anti-Acne. *International Journal of Science, Technology & Management*, 3(6), 1777-1783. <https://doi.org/10.46729/ijstm.v3i6.681>
- Dionisio, K. L., Phillips, K., Price, P. S., Grulke, C. M., Williams, A., Biryol, D., Hong, T., & Isaacs, K. K. (2018). The Chemical and Products Database is a resource for exposure-relevant data on chemicals in consumer products. *Sci Data*, 5, 180125. <https://doi.org/10.1038/sdata.2018.125>
- Ghang, B. Z., Lee, J. S., Choi, J., Kim, J., & Yoo, B. (2022). Increased risk of cardiovascular events and death in the initial phase after discontinuation of febuxostat or allopurinol: another story of the CARES trial. *RMD Open*, 8(2). <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2021-001944>
- Gheitasi, I., Motaghi, N., Sadeghi, H., Sadeghi, H., Moslemi, Z., Eftekhari, M., Shakerinasab, N., & Doustimotlagh, A. H. (2021). Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of *Origanum Majorana* L. Methanolic Extract on Bile Duct Ligation in Male Rats. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 9927196. <https://doi.org/10.1155/2021/9927196>
- Ivanova, L., & Karelson, M. (2022). The Impact of Software Used and the Type of Target Protein on Molecular Docking Accuracy. *Molecules*, 27(24). <https://doi.org/10.3390/molecules27249041>
- Kumar, A. U. A., Browne, L. D., Li, X., Adeeb, F., Perez-Ruiz, F., Fraser, A. D., & Stack, A. G. (2018). Temporal trends in hyperuricemia in the Irish health system from 2006-2014: A cohort study. *PLoS One*, 13(5), e0198197. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198197>

- Liu, R., Han, C., Wu, D., Xia, X., Gu, J., Guan, H., Shan, Z., & Teng, W. (2015). Prevalence of Hyperuricemia and Gout in Mainland China from 2000 to 2014: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomed Res Int*, 2015, 762820. <https://doi.org/10.1155/2015/762820>
- Manampiring, A. E. (2011). Hiperurisemia. *Jurnal Biomedik*, Vol. 3 No. 2. <https://doi.org/https://doi.org/10.35790/jbm.3.2.2011.865>
- Mandakhalikar, K. D., Koh, S. S., Jeong, S.-Y., Moshinsky, D., Feyaerts, P., Karuna, R., Kim, J., Jaison, L., Pradhan, S., Kim, Y. J., & Park, J. (2022). First-in-class monoclonal antibody (mAb) PBP1510 targeting pancreatic adenocarcinoma upregulated factor (PAUF) for pancreatic cancer (PC) treatment: Preclinical perspectives. *Journal of Clinical Oncology*, 40(16_suppl), e16274-e16274. https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.e16274
- Mansouri, M. T., Hemmati, A. A., Naghizadeh, B., Mard, S. A., Rezaie, A., & Ghorbanzadeh, B. (2015). A study of the mechanisms underlying the anti-inflammatory effect of ellagic acid in carrageenan-induced paw edema in rats. *Indian J Pharmacol*, 47(3), 292-298. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.157127>
- Mason, S. E., Mullen, K. A. E., Anderson, K. L., Washburn, S. P., Yeatts, J. L., & Baynes, R. E. (2017). Pharmacokinetic analysis of thymol, carvacrol and diallyl disulfide after intramammary and topical applications in healthy organic dairy cattle. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 34(5), 740-749. <https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1285056>
- Maurya, A., Singh, V. K., Das, S., Prasad, J., Kedia, A., Upadhyay, N., Dubey, N. K., & Dwivedy, A. K. (2021). Essential Oil Nanoemulsion as Eco-Friendly and Safe Preservative: Bioefficacy Against Microbial Food Deterioration and Toxin Secretion, Mode of Action, and Future Opportunities. *Front Microbiol*, 12, 751062. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.751062>
- Neoptolemos, J. P., Palmer, D. H., Ghaneh, P., Psarelli, E. E., Valle, J. W., Halloran, C. M., Faluy, O., O'Reilly, D. A., Cunningham, D., Wadsley, J., Darby, S., Meyer, T., Gillmore, R., Anthoney, A., Lind, P., Glimelius, B., Falk, S., Izbicki, J. R., Middleton, G. W., . . . European Study Group for Pancreatic, C. (2017). Comparison of adjuvant gemcitabine and capecitabine with gemcitabine monotherapy in patients with resected pancreatic cancer (ESPAC-4): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet*, 389(10073), 1011-1024. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32409-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32409-6)
- Priani, S. E. (2022). Kajian Pengembangan Sediaan Nanoemulsi Gel untuk Penghantaran Perkutan Agen Analgesik dan Antiinflamasi. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 8(2), 113-127. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v8i2.184>
- Prihantini, M., Zulfa, E., Prastiwi, L. D., & Yulianti, I. D. (2020). Pengaruh Waktu Ultrasonikasi Terhadap Karakteristik Fisika Nanopartikel Kitosan Ekstrak Etanol Daun Suji (*Pleomele Angustifolia*) Dan Uji Stabilitas Fisika Menggunakan Metode Cycling Test. 2020, 16(02), 9. <https://doi.org/10.31942/jiffk.v16i02.3237>
- Purwanto, U. R. E., Shalikhah, M., Munisih, Siti. (2021). Formulation and Physical Characterization of Essential Oil Bangle (*Zingiber cassumunar*). *Journal of Science and Technology Research for Pharmacy*, 1(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.15294/JSTRP.V1I1.43500>

- Purwanto, U. R. E., Intan Martha, C., Yuliana, P., Berliana Ganita Fatika, S., & Fitria, F. (2023). Optimization of Polysorbate 80 and Sorbitan Monooleate 80 as Emulsifiers in Foundation Makeup Containing Ethyl Cinnamate. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 34(1). <https://doi.org/10.22146/ijp.3308>
- Raina, A. P., & Negi, K. S. (2012). Essential oil composition of *Origanum majorana* and *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* growing in India. *Chemistry of Natural Compounds*, 47(6), 1015-1017. <https://doi.org/10.1007/s10600-012-0133-4>
- Riaz, M., Al Kury, L. T., Atzaz, N., Alattar, A., Alshaman, R., Shah, F. A., & Li, S. (2022). Carvacrol Alleviates Hyperuricemia-Induced Oxidative Stress and Inflammation by Modulating the NLRP3/NF-kappaB Pathway. *Drug Des Devel Ther*, 16, 1159-1170. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S343978>
- Roman, Y. M. (2019). The Daniel K. Inouye College of Pharmacy Scripts: Perspectives on the Epidemiology of Gout and Hyperuricemia. *Hawaii J Med Public Health*, 78(2), 71-76.
- Sah, S. K., Khatiwada, S., Pandey, S., Kc, R., Das, B. K., Baral, N., & Lamsal, M. (2016). Association of high-sensitivity C-reactive protein and uric acid with the metabolic syndrome components. *Springerplus*, 5, 269. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1933-y>
- Sengupta, P., & Chatterjee, B. (2017). Potential and future scope of nanoemulgel formulation for topical delivery of lipophilic drugs. *Int J Pharm*, 526(1-2), 353-365. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.04.068>
- Shaker, D. S., Ishak, R. A. H., Ghoneim, A., & Elhuoni, M. A. (2019). Nanoemulsion: A Review on Mechanisms for the Transdermal Delivery of Hydrophobic and Hydrophilic Drugs. *Scientia Pharmaceutica*, 87(3), 17. <https://www.mdpi.com/2218-0532/87/3/17>
- Sinko, P. J. (2019). *Martin ' S Physical Pharmacy And Pharmaceutical Sciences Physical Chemical and Biopharmaceutical Principles in the Pharmaceutical Sciences*. Wolters and Kluwer.
- Smith, E. M., Lyn. (2015). Global Prevalence of Hyperuricemia: A Systematic Review of Population-Based Epidemiological Studies. *Arthritis Rheumatol*, 67 <https://acrabstracts.org/abstract/global-prevalence-of-hyperuricemia-a-systematic-review-of-population-based-epidemiological-studies/>.
- Talegaonkar, S., & Alabood, R. M. (2011). Design And Development Of O/W Nanoemulsion For The Transdermal Delivery of Ondansetron.
- Wahyuni, T. W., Anggita, M., Abdul, Katrin, K. (2016). Uji Aktivitas Penghambatan Xantin Oksidase Ekstrak Etanol 80% Dari Tanaman Famili Combretaceae, Lauraceae, Lythraceae, Oxalidaceae, Piperaceae, Plumbaginaceae, Dan Smilacaceae. 6(2). <https://doi.org/https://doi.org/10.33751/jf.v6i2.757>
- Yang, M., Gu, Y., Yang, D., Tang, X., & Liu, J. (2017). Development of triptolide-nanoemulsion gels for percutaneous administration: physicochemical, transport, pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics. *J Nanobiotechnology*, 15(1), 88. <https://doi.org/10.1186/s12951-017-0323-0>
- Yokose, C., Lu, N., Xie, H., Li, L., Zheng, Y., McCormick, N., Rai, S. K., Avina-Zubieta, J. A., & Choi, H. K. (2019). Heart disease and the risk of allopurinol-associated severe cutaneous adverse reactions: a general population-based cohort study. *CMAJ*, 191(39), E1070-E1077. <https://doi.org/10.1503/cmaj.190339>

- Zha, X., Yang, B., Xia, G., & Wang, S. (2022). Combination of Uric Acid and Pro-Inflammatory Cytokines in Discriminating Patients with Gout from Healthy Controls. *J Inflamm Res*, 15, 1413-1420. <https://doi.org/10.2147/JIR.S357159>
- Zhao, Y., Peng, F., & Ke, Y. (2021). Design and characterization of oil-in-water nanoemulsion for enhanced oil recovery stabilized by amphiphilic copolymer, nonionic surfactant, and LAPONITE® RD. *RSC Adv*, 11(4), 1952-1959. <https://doi.org/10.1039/d0ra06080a>

Identifikasi Senyawa Aktif Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) sebagai Inhibitor Tirosinase

*Identification of Active Compound from Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) as Tyrosinase Inhibitor*

Willy Tirza Eden^{1*}, Clarissa Salshabila², Senda Kartika Rakainsa¹ dan Sri Mursiti²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Negeri Semarang, Semarang, Indonesia

²Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang, Semarang, Indonesia

*Corresponding author: willytirzaeden@mail.unnes.ac.id

Diterima: 11 Mei 2023; **Disetujui:** 18 November 2024; **Dipublikasi:** 9 Desember 2024

Abstrak

Produksi melanin yang berlebih dapat menimbulkan bercak-bercak gelap pada kulit yang disebut hiperpigmentasi. Salah satu penanganan hiperpigmentasi melalui penghambatan sintesis melanin dengan mekanisme penghambatan enzim tirosinase. Beberapa senyawa alami yang dapat bertindak sebagai inhibitor tirosinase diantaranya polifenol, turunan *benzaldehyde*, *benzoate*, dan steroid. Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa eceng gondok memiliki kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid dan steroid. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas inhibitor tirosinase dari bagian tumbuhan eceng gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) melalui metode *bioassay-guided isolation* dan mengidentifikasi senyawa yang berperan sebagai inhibitor tirosinase melalui proses kromatografi. Hasil penelitian diperoleh aktivitas inhibitor tertinggi pada bagian daun eceng gondok dengan nilai persen inhibisi sebesar $23,75 \pm 3,43\%$ dan persen inhibisi tertinggi pada bagian fraksi etil asetat dari ekstrak daun eceng gondok dengan nilai sebesar $12,29 \pm 4,16\%$. Ekstrak daun eceng gondok memiliki aktivitas inhibitor tirosinase tertinggi jika dibandingkan dengan ekstrak akar dan batang eceng gondok. Fraksi etil asetat dari ekstrak daun memiliki aktivitas lebih tinggi jika dibandingkan fraksi n-heksan dari ekstrak daun. Senyawa steroid dengan gugus fungsi $-OH$, $C-O$, $-CH$ dan ikatan $C=C$ yang terkandung dalam subfraksi etil asetat dari daun eceng gondok diduga merupakan senyawa yang berpotensi sebagai inhibitor tirosinase yang didukung dengan hasil positif terhadap penampak bercak *Liebermann-Burchard* dengan nilai R_f sebesar 0,54.

Kata kunci: *Bioassay-guided isolation*; *Eichhornia crassipes*; Inhibitor tirosinase; Hiperpigmentasi

Abstract

Excessive production of melanin can cause dark patches on the skin, which is called hyperpigmentation. One of the treatments for hyperpigmentation is inhibiting melanin synthesis with the mechanism of inhibition of the tyrosinase enzyme. Some natural compounds that can act as tyrosinase inhibitors include polyphenols, benzaldehyde derivatives, benzoates, and steroids. Previous research stated that water hyacinth contains flavonoids, alkaloids, tannins, terpenoids, and steroids. This research was conducted to determine the activity of tyrosinase

inhibitors from parts of the water hyacinth plant (Eichhornia crassipes (Mart.) Solms) through the bioassay-guided isolation method and to identify compounds that act as tyrosinase inhibitors through a chromatography process. The results showed that the highest inhibitory activity was in the water hyacinth leaf section with a percent inhibition value of $23.75 \pm 3.43\%$ and the highest inhibition percentage in the ethyl acetate fraction of water hyacinth leaf extract with a value of $12.29 \pm 4.16\%$. Water hyacinth leaf extract had the highest tyrosinase inhibitor activity compared to water hyacinth root and stem extracts. The ethyl acetate fraction from the leaf extract had higher activity than the n-hexane fraction from the leaf extract. Steroid compounds with functional groups $-OH$, $C-O$, $-CH$, and $C=C$ bonds contained in the ethyl acetate subfraction of water hyacinth leaves are thought to be compounds that have the potential to act as tyrosinase inhibitors, which are supported by positive results for the Liebermann-Burchard spot appearance with an R_f value of 0.54.

Keywords: Bioassay-guided isolation; *Eichhornia crassipes*; Hyperpigmentation; Tyrosinase inhibitor

1. PENDAHULUAN

Produksi melanin yang berlebihan dapat menyebabkan munculnya bercak-bercak gelap pada kulit, yang dikenal sebagai hiperpigmentasi. Kondisi tersebut, tidak hanya dianggap sebagai masalah estetika tetapi juga meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang mengakibatkan kerusakan kulit (Pannindriya *et al.*, 2021). Salah satu penanganan hiperpigmentasi yaitu melalui penghambatan sintesis melanin menggunakan agen depigmentasi yang bekerja dengan mekanisme penghambatan aktivitas enzim tirosinase (Hindun *et al.*, 2017). Enzim tirosinase berperan sebagai katalis dalam dua reaksi yang berbeda dalam proses pembentukan melanin (melanogenesis) yaitu proses hidroksilasi tirosin menjadi L-DOPA dan oksidasi L-DOPA menjadi DOPA kuinon (Ripaldo & Sagala, 2020) yang selanjutnya akan dikonversi menjadi melanin melalui beberapa tahapan transformasi (Chang, 2009).

Beberapa agen depigmentasi yang dapat menghambat kerja enzim tirosinase diantaranya hidrokuinon dan asam kojat. Namun, penggunaannya dapat menimbulkan efek samping. Penggunaan hidrokuinon dalam jangka panjang dan konsentrasi tinggi dapat menyebabkan iritasi kulit, rasa terbakar hingga risiko kanker kulit (Owolabi *et al.*, 2020). Sementara itu, penggunaan asam kojat dilaporkan memiliki potensi sensitisasi yang tinggi dan dapat menyebabkan dermatitis kontak iritan (Soyata & Chaerunisaa, 2021). Oleh karena itu, diperlukan agen depigmentasi kulit yang bersifat alami dengan efek samping rendah. Chang (2009) mengelompokkan inhibitor tirosinase menjadi lima kelas utama, yaitu polifenol, turunan benzaldehida dan benzoat, lipid rantai panjang dan steroid. Inhibitor tirosinase yang bersumber dari tumbuhan diharapkan memiliki toksisitas yang lebih rendah dan meminimalisir efek yang tidak diinginkan terhadap lingkungan.

Eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) merupakan salah satu tumbuhan gulma yang dapat merusak perairan (Sidharta *et al.*, 2021) dan dianggap sebagai tanaman air yang memiliki pertumbuhan dan penyebaran paling cepat di dunia dengan pertumbuhan yang padat (Rufchaei *et al.*, 2021). Pertumbuhan eceng gondok yang sangat cepat dan tidak terkendali dapat mengakibatkan banyak kerugian diantaranya mengurangi produktivitas pada badan air yaitu mengambil ruang dan unsur hara yang dibutuhkan oleh ikan (Nazirah & Marpaung, 2021).

Disamping keberadaan dan populasinya yang dapat mengganggu wilayah perairan, tumbuhan eceng gondok diketahui memiliki beberapa manfaat diantaranya sebagai antiinflamasi, antijamur dan antikanker serta memiliki kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, polifenol, saponin dan alkaloid (Djafar *et al.*, 2021). Studi yang dilakukan oleh Tyagi (2017) melaporkan bahwa hampir seluruh bagian dari tumbuhan eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) diketahui memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder diantaranya tanin, steroid, terpenoid, alkaloid, flavonoid dan beberapa senyawa lain pada bagian daun dan tangkai serta senyawa seperti flavonoid. Kuinon, antrakuinon dan polifenol pada bagian akar. Perbedaan kandungan jenis senyawa yang berbeda pada beberapa bagian tumbuhan eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) seperti yang telah ditunjukkan dalam penelitian sebelumnya menghasilkan dugaan bahwa bagian-bagian tumbuhan eceng gondok tersebut dapat berpotensi untuk berperan sebagai inhibitor tirosinase. Penelitian terkait potensi eceng gondok sebagai inhibitor tirosinase belum pernah dilakukan sebelumnya.

Berdasarkan penelitian sebelumnya melaporkan bahwa eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder dengan beragam manfaat. Hal ini menjadi tantangan bagi manusia untuk mengolah eceng gondok, yang dikenal sebagai gulma menjadi sumber daya yang berguna dan memiliki nilai ekonomi. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa aktif dari tumbuhan eceng gondok, serta mengevaluasi aktivitasnya sebagai penghambat enzim tirosinase yang berperan dalam sintesis melanin, penyebab utama hiperpigmentasi.

Pengujian aktivitas penghambatan tirosinase dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan *L-Tyrosine* sebagai substrat untuk mendapatkan nilai persentase inhibisi. Nilai persentase inhibisi tersebut menggambarkan kemampuan daya hambat sampel terhadap aktivitas enzim tirosinase. Karakterisasi senyawa dilakukan menggunakan spektroskopi IR atau FTIR untuk mengidentifikasi adanya gugus fungsional seperti hidroksil, aromatik, karbonil dan lain-lain. Data yang dihasilkan digunakan untuk memprediksi senyawa yang dianalisis.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Alat dan bahan

2.1.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain instrumen gelas, instrumen Kromatografi Vakum Cair (KVC), lampu UV (254 nm dan 366 nm), *rotary evaporator*, mikropipet, *vortex*, *centrifuge*, cawan porselin, *waterbath*, *multi-well plate*, spektrofotometer UV-Vis dan *Fourier Transform Infrared* (FTIR).

2.1.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian diantaranya tumbuhan eceng gondok (*Eichhornia crassipes*), etanol 96%, plat silika gel GF₂₅₄, n-heksan, etil asetat, metanol, kloroform, toluena, aseton, pereaksi *dragendorff*, AlCl₃ 10%, feri klorida (FeCl₃) 5%, anesaldehid-asam sulfat, *liebermann-burchard*, *folin-ciocalteau*, enzim tirosinase (Sigma),

substrat *L-Tyrosine* (Sigma), pelarut dimetil sulfoksida (DMSO), natrium hidroksida (NaOH), monopotassium fosfat (KH₂PO₄) dan aquabides.

2.2. Metode

2.2.1. Preparasi sampel ekstrak eceng gondok

Tumbuhan eceng gondok dicuci dengan air mengalir kemudian dilakukan proses pemisahan antara bagian akar, batang dan daun. Bagian-bagian tersebut diperkecil ukurannya agar mempercepat proses pengeringan. Proses pengeringan dilakukan secara manual di bawah sinar matahari. Bagian-bagian tumbuhan yang telah mengering kemudian dihaluskan menggunakan *grinder blender* dan diperoleh serbuk bagian akar, batang dan daun eceng gondok. Simplisia akar, batang, dan daun masing-masing sebesar 0,2 Kg diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 2 L tiap kali maserasi. Proses ekstraksi dilakukan selama 1x24 jam dengan tiga kali remaserasi. Filtrat yang diperoleh dari proses ekstraksi kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45-50°C. Ekstrak kental dari bagian akar, batang dan daun yang dihasilkan dari proses tersebut kemudian dialiri gas nitrogen agar diperoleh ekstrak kering.

2.2.2. Penentuan aktivitas inhibitor tirosinase

Penentuan aktivitas penghambatan tirosinase dilakukan dengan menambahkan 70 µL dari tiap pengenceran ekstrak dan 30 µL larutan enzim tirosinase (Sigma, 850,3 unit/mL dalam dapar fosfat) dalam *96-well plate*. Kemudian, sumuran diinkubasi pada suhu kamar selama 5 menit. Setelah inkubasi ditambahkan 110 µL substrat *L-Tyrosine* (2 mM) dan dilanjutkan dengan proses inkubasi kembali selama 30 menit pada suhu kamar. Larutan pada tiap sumur (Tabel 1) diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang (λ) = 510 nm (Batubara *et al.*, 2010). Nilai persentase inhibisi dihitung dengan Persamaan 1.

$$\text{Persentase Nilai Inhibisi (\%)} = \frac{(A-B)}{A} \times 100\%$$

Persamaan 1. Perhitungan aktivitas penghambatan tyrosinase menggunakan persentase nilai inhibisi. Keterangan: Nilai absorbansi blanko dikurangi kontrol blanko (A), Nilai absorbansi sampel dikurangi kontrol sampel (B)

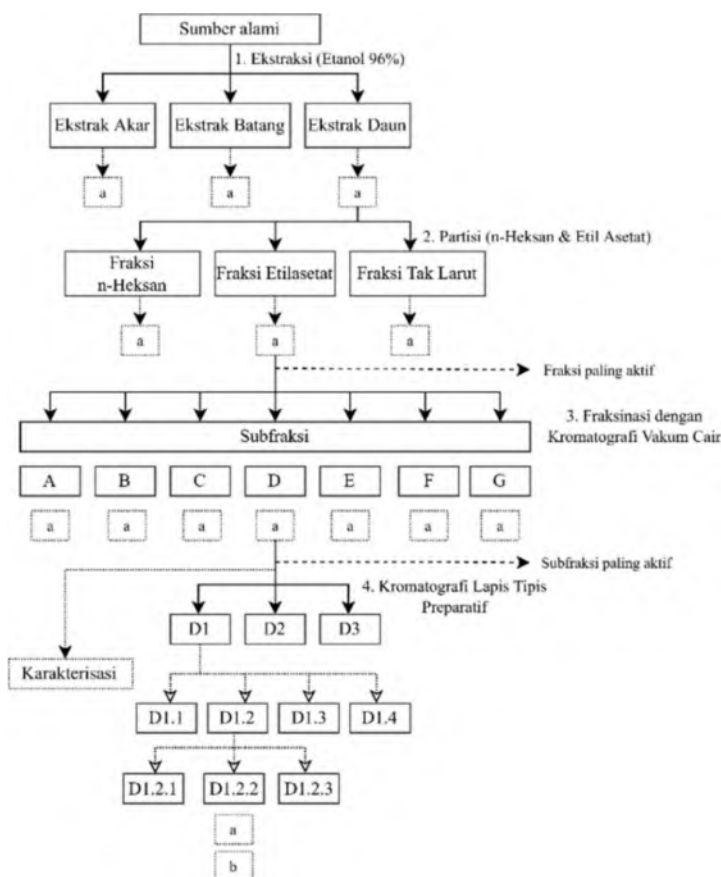
Tabel 1. Prosedur penghambatan tirosinase terhadap ekstrak, fraksi dan isolat eceng gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms).

Bahan	Volume (µL)			
	Blanko	Kontrol Blanko	Sampel	Kontrol Sampel
Larutan Dapar Fosfat (pH 6,5)	70	210	-	140
Substrat <i>L-Tyrosine</i>	110	-	110	-
Larutan Uji Sampel	-	-	70	70
Enzim Tirosinase	30	-	30	-

2.2.3. Bioassay-guided isolation

Prosedur lengkap *bioassay-guided isolation* (Gambar 1), pemisahan dilakukan secara partisi cair-cair terhadap ekstrak dengan nilai persentase inhibisi tertinggi. Ekstrak daun

sejumlah 8 gram secara berurutan difraksinasi dengan n-heksan 80 ml (8x10 ml) dan etil asetat 60 ml (6x10 ml). Pemisahan fraksi dilakukan dengan teknik kromatografi lapis tipis (KLT). Proses KLT dilakukan dengan pelarut hasil optimasi fase gerak yaitu n-heksan:etil asetat menggunakan perbandingan 1:1. Subfraksi dengan nilai % inhibisi tertinggi kemudian dipisahkan kembali secara KLT preparatif dengan fase gerak yang sama. Subfraksi hasil dari KLT preparatif selanjutnya dilakukan uji kemurnian menggunakan tiga jenis kombinasi fase gerak dengan polaritas yang berbeda.



Gambar 1. Tahapan *Bioassay-guided isolation* Eceng Gondok (*Erichornia crassipes* (Mart.) Solms). Keterangan: Jalur Pemisahan (→), Jalur *Bio-assay* (----->), Jalur Pemisahan melalui Pendekatan Fitokimia (----->), Uji Aktivitas Inhibitor Tirosinase (a) dan Uji Fitokimia (b).

2.2.4. Uji fitokimia

Uji fitokimia dilakukan terhadap subfraksi hasil KLT preparatif yang mengandung senyawa target yang diidentifikasi. Identifikasi senyawa target dilakukan dengan menggunakan KLT analitik untuk mengetahui profil kromatogram dari senyawa tersebut. Uji fitokimia dilakukan dengan menggunakan fase gerak hasil optimasi dan penyemprotan berbagai pereaksi penampak noda diantaranya AlCl_3 , *folin-ciocalteau*, FeCl_3 , *dragendorff*, *liebermann-burchard* dan *anisaldehide*.

2.2.5. Fourier Transform Infrared (FTIR)

Gugus fungsi dari subfraksi atau isolat dengan nilai % inhibisi tertinggi diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer FTIR. Intensitas serapan senyawa hasil isolasi diukur pada bilangan gelombang 4000 cm^{-1} sampai 600 cm^{-1} . Kemudian hasil pengukuran akan diperoleh puncak-puncak spesifik dari gugus fungsi dari senyawa yang diisolasi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Uji Inhibitor tirosinase ekstrak eceng gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms)

Pengujian aktivitas inhibitor tirosinase dari bagian ekstrak akar, batang dan daun eceng gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara ketiganya (Tabel 2). Hal tersebut dibuktikan melalui uji statistika *one-way ANOVA* dengan nilai *P-value* 0,19 dimana $<0,05$. Rendemen yang dihasilkan pada bagian daun memiliki jumlah lebih tinggi dari dua bagian lainnya yaitu akar dan batang. Nilai rendemen daun yang lebih tinggi tersebut memungkinkan lebih banyaknya senyawa yang larut. Hal tersebut selaras dengan penelitian oleh Hasanah *et al* (2016) yang menyebutkan bahwa hasil uji fitokimia dari bagian daun eceng gondok dan ekstrak etanolnya memiliki kandungan beberapa senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid, fenolik, saponin dan steroid.

Tabel 2. Penghambatan tirosinase ekstrak akar, batang dan daun eceng gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) 100 ppm. Keterangan: huruf yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan hasil yang bermakna.

Ekstrak Eceng Gondok	Inhibisi (%)
Akar	$22,17 \pm 3,71^a$
Batang	$18,77 \pm 1,08^a$
Daun	$23,75 \pm 3,43^a$

3.2. Uji inhibitor tirosinase fraksi eceng gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms)

Ekstrak daun eceng gondok yang memiliki nilai persen inhibisi tertinggi pada tahap uji aktivitas inhibitor tirosinase dilakukan fraksinasi bertingkat dengan pelarut n-heksan dan etil asetat. Uji aktivitas inhibitor terhadap fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi tak larut dari ekstrak daun menunjukkan hasil uji aktivitas inhibitor tirosinase tertinggi pada fraksi etil asetat dengan nilai sebesar $12,29 \pm 4,16\%$. Jika dibandingkan dengan dua fraksi lainnya yaitu fraksi n-heksan dan fraksi tak larut dengan nilai % inhibisi sebesar $9,39 \pm 3,21$ dan $5,96 \pm 0,97\%$ (Tabel 3). Hasil penelitian tersebut sejalan dengan penelitian yang pernah dilaporkan oleh Indrisari *et al* (2021) menggunakan daun *Terminalia catappa* L. Fraksi etil asetat pada daun tanaman tersebut mampu menghambat enzim tyrosinase dengan nilai IC_{50} sebesar $50,54 \pm 2,37$ ppm. Nilai IC_{50} tersebut lebih rendah dibandingkan fraksi heksan dan fraksi air. Diketahui bahwa semakin rendah nilai IC_{50} menunjukkan semakin besar aktivitas penghambatannya.

3.3. Uji inhibitor tirosinase subfraksi eceng gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms)

Fraksi etil asetat sebagai fraksi dengan nilai persen inhibisi tertinggi dipisahkan menggunakan kromatografi vakum cair (KVC) dengan metode elusi gradien. Proses pemisahan ini menghasilkan tujuh subfraksi, yaitu subfraksi A, B, C, D, E, F dan G. Hasil uji aktivitas

inhibitor tirosinase pada ketujuh subfraksi (Tabel 4) 100 ppm dari fraksi etil asetat ekstrak daun enceng gondok.

Tabel 3. Penghambatan tirosinase fraksi heksan, etil asetat, dan tak larut dari ekstrak daun eceng gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) 100 ppm.

Fraksi Daun Eceng Gondok	Inhibisi (%)
Fraksi Heksan (FH)	9.39 ± 3.21
Fraksi Etil Asetat (FEA)	12.29 ± 4.16
Fraksi Tak Larut (FTL)	5.96 ± 0.97

Hasil pengujian aktivitas inhibitor tirosinase subfraksi D yang merupakan subfraksi dengan aktivitas inhibitor tertinggi dilakukan pemisahan beberapa bagian diantaranya subfraksi D1, D2 dan D3 (Tabel 5). Pengembangan metode *bioassay guided isolation* telah terbukti mampu menemukan senyawa aktif sebagai kandidat obat antihiperpigmentasi. Hal tersebut relevan dengan penelitian yang telah dilaporkan oleh Salsabila *et al* (2022) yang mengidentifikasi tiga isolat fraksi heksan daun meniran (*Phyllanthus niruri* L.) yakni *phyllanthin*, *phyltetralin*, dan *hypophyllanthin*. Diketahui bahwa hanya senyawa *phyllanthin* yang mampu menghambat enzim *tyrosinase* dengan nilai IC_{50} 264,57 ± 3,74 ppm.

Tabel 4. Penghambatan tirosinase subfraksi A-G 100 ppm dari fraksi etil asetat pada ekstrak daun eceng gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms).

Subfraksi Daun Eceng Gondok	Inhibisi (%)
Subfraksi A	20.20 ± 1.39
Subfraksi B	15.94 ± 7.00
Subfraksi C	17.03 ± 8.36
Subfraksi D	38.43 ± 3.00
Subfraksi E	19.65 ± 1.51
Subfraksi F	Inactive
Subfraksi G	Inactive

3.4. Pemurnian subfraksi D1

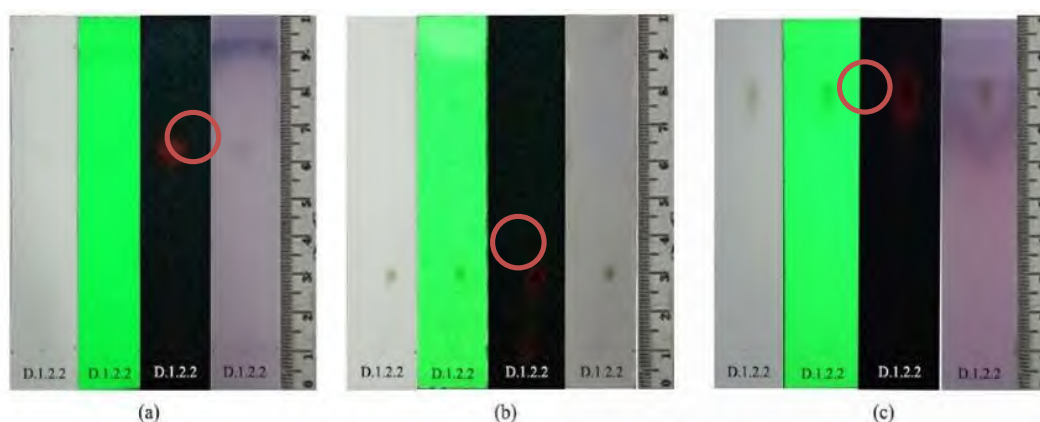
Pemisahan subfraksi D dengan menggunakan KLT preparatif menghasilkan senyawa tunggal yang diidentifikasi melalui KLT analitik dengan munculnya satu noda yang diduga merupakan senyawa murni. Uji kemurnian dilakukan terhadap subfraksi hasil KLT preparatif yang mengandung senyawa target dengan menggunakan tiga sistem eluen diantaranya n-heksana:etil asetat (1:1) dengan nilai R_f sebesar 0,7, toluena:metanol (8:0,5) dengan nilai R_f sebesar 0,37 dan petroleum eter:aseton (1:1) dengan nilai R_f sebesar 0,9. Berdasarkan uji kemurnian yang dilakukan diketahui bahwa subfraksi menunjukkan pola noda tunggal. Hasil uji kemurnian terhadap subfraksi tersebut ditunjukkan pada Gambar 2. Hasil pemurnian subfraksi D1 (D1.2.2) pada konsentrasi 100 ppm dilakukan uji aktivitas inhibitor tirosinase menghasilkan penghambatan sebesar 27,32 ± 6,30 %.

Tabel 5. Penghambatan tirosinase subfraksi D1, D2, dan D3 100 ppm dari fraksi etil asetat pada ekstrak daun eceng gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms).

Subfraksi D	Inhibisi (%)
Subfraksi D1	7,67 ± 5.82
Subfraksi D2	9,35 ± 4.07
Subfraksi D3	15,08 ± 5.23

3.5. Uji fitokimia D1.2.2

Subfraksi yang mengandung senyawa target, selanjutnya dilakukan uji fitokimia menggunakan berbagai pereaksi penampak noda. Hasil uji fitokimia terhadap D1.2.2 dari fraksi etil asetat pada ekstrak daun eceng gondok (Tabel 6).



Gambar 2. Uji kemurnian D1.2.2 dari fraksi etil asetat pada ekstrak daun eceng gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms). Keterangan: (a) n-heksana:etilasetat (1:1), (b) toluen:metanol (8:0.5), (c) petroleum eter:aseton (1:1).

Senyawa D1.1.2 (isolat aktif) memiliki hasil positif yang ditunjukkan pada penyemprotan penampak noda *liebermann-burchard* dengan terbentuknya warna hijau pada nilai R_f 0,54. Warna hijau yang muncul setelah penyemprotan pereaksi *liebermann-burchard* merupakan indikator positif adanya kandungan senyawa steroid. Senyawa seperti steroid diketahui memiliki kemampuan dalam reaksi penghambatan enzim tirosinase disebabkan adanya interaksi oleh gugus -OH yang ada pada senyawa tersebut dengan radikal bebas yang ada pada sisi aktif enzim atau pada ion tembaga (Cu) sebagai sisi aktif enzim (*active site*) enzim tirosinase (Jayantie *et al.*, 2022). Mustika *et al* (2020) dalam Jayantie *et al* (2022) juga menyebutkan bahwa jumlah gugus hidroksil pada senyawa diketahui memiliki peran penting dalam proses penghambatan enzim tirosinase. Chang (2009) menyatakan bahwa pada umumnya satu molekul enzim tirosinase terkandung dua buah atom Cu yaitu CuA dan CuB yang terikat pada tiga asam amino histidin. Atom Cu dalam enzim tirosinase berperan sebagai kofaktor pada aktivitas enzim tirosinase. Kemampuan katalitik enzim tirosinase dapat berkurang dengan hilangnya Cu dari situs aktif enzim tirosinase, sehingga pembentukan dopakrom tidak terbentuk (Sagala *et al.*, 2019).

Senyawa D1.1.2 (isolat aktif) memiliki hasil positif yang ditunjukkan pada penyemprotan penampak noda *liebermann-burchard* dengan terbentuknya warna hijau pada nilai Rf 0,54. Warna hijau yang muncul setelah penyemprotan pereaksi *liebermann-burchard* merupakan indikator positif adanya kandungan senyawa steroid. Senyawa seperti steroid diketahui memiliki kemampuan dalam reaksi penghambatan enzim tirosinase disebabkan adanya interaksi oleh gugus –OH yang ada pada senyawa tersebut dengan radikal bebas yang ada pada sisi aktif enzim atau pada ion tembaga (Cu) sebagai sisi aktif enzim (*active site*) enzim tirosinase (Jayantie *et al.*, 2022). Mustika *et al* (2020) dalam Jayantie *et al* (2022) juga menyebutkan bahwa jumlah gugus hidroksil pada senyawa diketahui memiliki peran penting dalam proses penghambatan enzim tirosinase. Chang (2009) menyatakan bahwa pada umumnya satu molekul enzim tirosinase terkandung dua buah atom Cu yaitu CuA dan CuB yang terikat pada tiga asam amino histidin. Atom Cu dalam enzim tirosinase berperan sebagai kofaktor pada aktivitas enzim tirosinase. Kemampuan katalitik enzim tirosinase dapat berkurang dengan hilangnya Cu dari situs aktif enzim tirosinase, sehingga pembentukan dopakrom tidak terbentuk (Sagala *et al.*, 2019).

Salah satu senyawa steroid yang telah diisolasi dari tanaman eceng gondok yaitu stigmasterol yang merupakan senyawa steroid alkohol. Penelitian tersebut dilakukan oleh Singh *et al* (2015) yang melakukan isolasi terhadap stigmasterol pada ekstrak kloroform eceng gondok menggunakan kromatografi kolom silika. Penelitian lain oleh Banakar & Jayaraj (2018) yang melakukan analisis GC-MS terhadap ekstrak daun eceng gondok juga menunjukkan kandungan stigmasterol pada ekstrak daun eceng gondok. Potensi senyawa steroid sebagai penghambat tirosinase ditunjukkan oleh Sabudak *et al* (2006) dalam penelitiannya yang melakukan isolasi terhadap tiga jenis steroid dari bagian aerial *Trifolium balansae* yang menunjukkan aktivitas penghambatan difenolase terhadap tirosinase. Stigmast-5-ene-3 β ,26-diol menunjukkan potensi penghambatan terbaik dari ketiga senyawa yang diisolasi ($IC_{50} = 2,39 \mu M$) jika dibandingkan dengan penghambat tirosinase standar yaitu asam kojat (KA, $IC_{50} = 16,67 \mu M$).

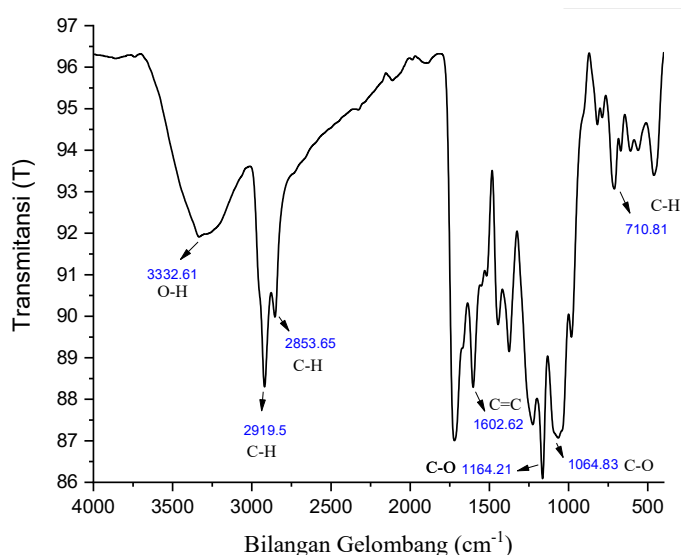
Tabel 6. Hasil uji fitokimia subfraksi D1.2.2 dari fraksi etil asetat pada ekstrak daun eceng gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms). Keterangan: Hasil uji fitokimia positif (+), Hasil uji fitokimia negatif (-).

Golongan Senyawa	Pereaksi Penampak Noda	Indikator Positif	Hasil Uji
Flavonoid	AlCl ₃ 10%	Kuning kehijauan	-
Fenolik	Folin-ciocalteau	Biru abu-abu	-
Fenolik/Tanin	FeCl ₃ 5%	Biru/Hitam	-
Alkaloid	Dragendorff	Merah-coklat	-
Steroid	Liebermann-Burchard (Pemanasan $\pm$ 5 menit)	Hijau Biru	+
Triterpenoid	Liebermann-Burchard (Pemanasan $\pm$ 5 menit)	Merah-Ungu	-
Terpenoid	Anesaldehid-asamsulfat (Pemanasan 110 C)	Ungu (Violet)	-

3.5. Karakterisasi FTIR

Karakterisasi FTIR isolate aktif dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang mendukung informasi mengenai metabolit sekunder yang diduga merupakan golongan steroid. Spektrum FTIR isolat aktif eceng gondok ditunjukkan pada Gambar 3.

Spektrum FTIR (Gambar 3) menunjukkan adanya vibrasi pada bilangan gelombang 3332,61 yang mengindikasikan adanya gugus -OH . Gugus -OH yang muncul diduga merupakan gugus alkohol. Hal tersebut didukung dengan adanya vibrasi pada bilangan gelombang 1164,21 dan 1064,83 cm^{-1} merupakan indikasi adanya gugus C-O alkohol yang menguatkan dugaan bahwa senyawa steroid tersebut memiliki gugus fungsi hidroksi (-OH). Analisis ini mengacu pada penelitian Suryelita *et al* (2017) yang melakukan karakterisasi pada senyawa yang diduga steroid. Vibrasi pada bilangan gelombang 2919,5 dan 710,81 cm^{-1} mengindikasikan gugus -CH dari sistem alkana (Suryelita *et al.*, 2017). Adanya vibrasi pada bilangan gelombang 2853 dan 2919,5 cm^{-1} dengan intensitas sangat kuat menunjukkan vibrasi ulur C-H alifatik. Selain itu, vibrasi tajam dengan intensitas kuat yang terbentuk pada panjang gelombang 1602,62 cm^{-1} mengindikasikan adanya ikatan $\text{C}=\text{C}$. Analisis tersebut memiliki kesesuaian dengan penelitian yang dilakukan oleh Widiyantoro & Destiarti (2018) yang melakukan karakterisasi pada isolat yang diduga merupakan steroid.



Gambar 3. Spektrum FTIR isolat aktif eceng gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms).

4. KESIMPULAN

Ekstrak daun eceng gondok (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) memiliki aktivitas tertinggi sebagai inhibitor tirosinase dengan nilai sebesar $23,75 \pm 3,43$ %. Fraksi etil asetat daun eceng gondok memiliki aktivitas terbaik dalam menghambat enzim tirosinase sebesar $12,29 \pm 4,16$ %. Senyawa steroid yang dikonfirmasi dengan spektrum IR memiliki gugus fungsi -OH , C-O, -CH dan ikatan $\text{C}=\text{C}$. Isolat aktif tersebut berpotensi kuat sebagai inhibitor tirosinase dengan nilai persen inhibisi sebesar $27,32 \pm 6,30$ %.

DEKLARASI KONFLIK KEPENTINGAN

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Banakar, P., & Jayaraj, M. (2018). Gc-MS Analysis of Bioactive Compounds From Ethanolic Leaves Extract of *Eichhornia crassipes* (Mart) Solms. and Their Pharmacological Activities. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(5), 2005–2010. <http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9>
- Batubara, I., Darusman, L. K., Mitsunaga, T., Rahminiwati, M., & Djauhari, E. (2010). Potency of Indonesian medicinal plants as tyrosinase inhibitor and antioxidant agent. In *Journal of Biological Sciences* (Vol. 10, Issue 2, pp. 138–144). <https://doi.org/10.3923/jbs.2010.138.144>
- Chang, T. S. (2009). An updated review of tyrosinase inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(6), 2440–2475. <https://doi.org/10.3390/ijms10062440>
- Djafar, F., Yamlean, P. V. Y., & Siampa, J. P. (2021). *Mouthwash Formulation of Water Hyacinth Extract (Eichhornia crassipes (Mart.) Solms) as An Antibiotics For Dental Caries (Streptococcus mutans)*. *Pharmakon*, 10(4), 1169–1177.
- Hasanah, M., P, M., & Amelia, K. (2016). Potensi Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Eceng Gondok (*Eichhornia Crassipes* (Mart.) Solms) yang Berasal dari Salah Satu Rawa di Palembang, Indonesia. *Jurnal Penelitian Sains*, 18(3), 168247.
- Hindun, S., Rusdiana, T., Abdasah, M., & Hindritiani, R. (2017). Potensi Limbah Kulit Jeruk Nipis (*Citrus auronfolia*) sebagai Inhibitor Tirosinase. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 4(2), 64. <https://doi.org/10.15416/ijpst.v4i2.12642>
- Indrisari, M., Sartini, Miskad, U.A., Djawad K., Tahir, K.A., Nurkhairi, Muslimin, L. (2021). Photoprotective and Inhibitory Activity of Tyrosinase in Extract and Fractions of *Terminalia catappa* L. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences, 15, 9(A), 263–270.
- Jayantie, D. D., Farida, Y., & Taurhesia, S. (2022). Aktivitas Antioksidan dan Inhibisi Enzim Tirosinase Ekstrak Etanol Buah Gandaria (*Bouea macrophylla* Griff.) secara *In Vitro*. *Jayantie et Al./Pharmacoscript*, 5(1), 62–70.
- Mustika, R., Hindun, S., & Auliasari, N. (2020). Potensi Tanaman Sebagai Pencerah Wajah Alami. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 2(4), 558–562. <https://jsk.farmasi.unmul.ac.id>
- Nazirah, L., & Marpaung, A. I. S. (2021). Pertumbuhan dan Hasil Beberapa Jagung (*Zea Mays* L) Akibat Pemberian Pupuk Organik Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*). *Jurnal Agrotek Indonesia*, 21(6), 15–21. <https://doi.org/10.33661/jai.v6i2.5432>
- Owolabi, J. O., Fabiyi, O. S., Adelakin, L. A., & Ekwerike, M. C. (2020). Effects of skin lightening cream agents - hydroquinone and kojic acid, on the skin of adult female experimental rats. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 13, 283–289. <https://doi.org/10.2147/CCID.S233185>
- Pannindriya, P., Safithri, M., & Tarman, K. (2021). Analisis In Silico Senyawa Aktif Spirulina platensis sebagai Inhibitor Tirosinase. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(1), 70–77. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v24i1.33122>
- Ripaldo, F., & Sagala, Z. (2020). Uji Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase dan Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Harendong (*Melastoma malabathricum* L.) secara *In Vitro*. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 5(1), 114–129. <https://doi.org/10.52447/inspj.v5i1.1800>
- Rufchaei, R., Abbas-Mohammadi, M., Mirzajani, A., & Nedaei, S. (2021). Evaluation of the Chemical Compounds and Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Leaves of

- Eichhornia Crassipes (Water Hyacinth). *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products, In Press*(In Press). <https://doi.org/10.5812/jjnpp.101436>
- Sabudak, T., Khan, M. T. H., Iqbal Choudhary, M., & Oksuz, S. (2006). Potent tyrosinase inhibitors from *Trifolium balansae*. *Natural Product Research*, 20(7), 665–670. <https://doi.org/10.1080/14786410500196821>
- Sagala, Z., Pratiwi, R. W., Azmi, N. U., & Maap. (2019). Uji Aktivitas Inhibisi terhadap Enzim Tirosinase dari Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Secara In Vitro. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 7(2), 34–38.
- Salsabila, S., Haniffadli, A., Hartati, R., Al Muqarrabun, L.M.R., Qomaladewi, N.P., Rosandy, A.R., Chahyadi, A., Elfahmi. (2022). Isolation of bioactive compounds with tyrosinase inhibitory activity from the methanol extract of meniran herb (*Phyllanthus niruri* Linn.). *Current Research on Biosciences and Biotechnology*, 3(2), 196-201.
- Sidharta, R., Santi, A. N., Sutanti, V., & Diah, D. (2021). Efektivitas Ekstrak Daun Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) terhadap Viabilitas *Porphyromonas gingivalis* secara In Vitro. *E-Prodenta Journal of Dentistry*, 5(1), 403–413.
- Singh, K. S., Sawant, S. G., Devi, P., & Kaminsky, W. (2015). Stigmasterol from *Eichhornia crassipes* (water hyacinth): Isolation, characterization and X-ray structure. *Asian Journal of Chemistry*, 27(8), 3028–3030. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2015.18832>
- Soyata, A., & Chaerunisaa, A. Y. (2021). Whitening Agent : Mekanisme, Sumber dari Alam dan Teknologi Formulasinya. *Majalah Farmasetika*, 6(2), 169. <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v6i2.28139>
- Suryelita, Etika, S. B., & Kurnia, N. S. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Steroid dari Daun Cemara Natal (*Cupressis funebris* Endl.). *Eksakta: Berkala Ilmiah Bidang MIPA*, 18(01), 86–94. http://clpsy.journals.pnu.ac.ir/article_3887.html
- Tyagi, T. (2017). Phytochemical Screening of Active Metabolites present in *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms and *Pistia stratiotes* (L.): Role in Ethanomedicine. *Asian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 6(4), 40–56.
- Widiyantoro, A., & Destiarti, L. (2018). Karakterisasi Senyawa Steroid Dari Fraksi Diklorometana Batang Tanaman Andong (*Cordyline Fruticosa*) Dan Aktivitas Sitotoksiknya Terhadap Sel Hela. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 7(Vol 7, No 1 (2018): Jurnal Kimia Khatulistiwa), 48–52. <http://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmipa/article/view/23588>

Formulasi, Uji Stabilitas Fisik, dan Efektifitas Sirup Antelmintik Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Cacing (*Ascaris suum*, Goeze)

*Formulation, Physical Stability Test, and Effectiveness of Garlic Extract Anthelmintic Syrup (*Allium sativum* L.) Against Worms*

Tuti Handayani Zainal^{1,2*}, Rahmad Aksa^{1,3}, Yuri Pratiwi Utami^{1,4} dan Heldawati Heldawati¹

¹Program Studi Farmasi, Universitas Almarisah Madani, Sulawesi Selatan, Indonesia

²Bagian Farmasetika dan Teknologi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Almarisah Madani, Sulawesi Selatan, Indonesia

³Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Almarisah Madani, Sulawesi Selatan, Indonesia

⁴Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Almarisah Madani, Sulawesi Selatan, Indonesia

*Corresponding author: tutihandayanizainal@gmail.com

Diterima: 13 Januari 2024; **Disetujui:** 9 November 2024; **Dipublikasi:** 9 Desember 2024

Abstrak

Umbi yang dapat digunakan untuk infeksi cacingan adalah bawang putih (*Allium sativum* L.). Kandungan bawang putih yaitu senyawa flavonoid dan saponin berkhasiat sebagai antelmintik. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efektifitas ekstrak bawang putih sebagai antelmintik terhadap cacing gelang *Ascaris suum*, Goeze. serta memperoleh formula sirup yang stabil secara fisik. Penelitian ini meliputi persiapan hewan uji, persiapan sampel, pengolahan sampel, proses ekstraksi dengan metode maserasi, skrining fitokimia, uji bebas etanol, uji aktivitas antelmintik ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.), pembuatan sirup, dan evaluasi. Penelitian ini menggunakan 3 kelompok perlakuan yaitu, larutan NaCl 0.9% sebagai kontrol negatif, pirantel pamoat 1% (Combantrin®) sebagai kontrol positif, dan ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.) variasi konsentrasi 20% b/v, 25% b/v, dan 30% b/v. Hewan uji untuk setiap perlakuan adalah 6 ekor. Pengamatan kematian cacing dilakukan setiap jam dan selama 48 jam, Hasil perhitungan diperoleh nilai LC₅₀ 33,88% dan LC₉₀ 93,33% dan waktu kematian 100% cacing adalah 28 jam. Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam pembuatan formulasi yaitu sebesar 30%, dengan variasi konsentrasi sorbitol sebesar 20%, 25% dan 30%. Formulasi sediaan sirup ekstrak bawang putih yang baik yaitu F3 dengan konsentrasi sorbitol 30% dengan hasil uji organoleptik berwarna coklat kehitaman, rasa manis, aroma strawberry, homogen dan jernih. Evaluasi fisik pH 5,05, bobot jenis 1,23 g/mL, waktu tuang 2,93 detik, volume terpindahkan 96% dan uji viskositas 8,40 cps. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bawang putih dapat dibuat sirup antelmintik dan efektif terhadap cacing *Ascaris suum*, Goeze.

Kata kunci: Antelmintik; *Ascaris suum*, Goeze; Bawang putih (*Allium sativum* L); Sirup

Abstract

Garlic (*Allium sativum* L.) can be used for worm infections. Garlic extract contains flavonoids and saponins, which have anthelmintic properties. This study aimed to determine the activity

of garlic extract as an anthelmintic against roundworms *Ascaris suum*, Goeze. As well as obtain a physically stable syrup formula. This research included preparation of test animals, sample preparation, sample processing, extraction process by maceration method, phytochemical screening, ethanol-free test, anthelmintic activity test of garlic (*Allium sativum* L.) extract, syrup preparation, and evaluation. This study used 3 treatment groups, namely 0.9% NaCl solution as a negative control, 1% pamoate pyrantel (Combantrin®) as a positive control, and garlic extract (*Allium sativum* L.) with a concentration of 20% b/v, 25% b/v, and 30% b/v. The sample size for each treatment was 6 individuals. Observations of worm death were carried out every hour for 48 hours. The calculation results obtained LC50 values of 33,88% and LC90 values of 93.33%, and the death time of 100% worms was 28 hours. A suitable garlic extract syrup formulation is sorbitol with a concentration of 30% with organoleptic test results that are blackish brown, sweet taste, strawberry aroma, homogeneous, and clear. pH 5.05, specific gravity 1.23 g/mL, the pouring time 2.93 sec, volume transferred 96%, and test viscosity 8.40 cps. The results of the study showed that garlic extract can be made into anthelmintic syrup that is stable and effective against *Ascaris suum* worms, Goeze.

Keywords: *Ascaris suum*, Goeze; Garlic extract (*Allium sativum* L.); Anthelmintic; Syrup

1. PENDAHULUAN

Infeksi cacing merupakan salah satu penyakit yang paling umum tersebar, khususnya pada anak-anak. *World Health Organization* (WHO) menyatakan pada tahun 2019, angka kejadian *Infeksi Soil Transmitted Helminth* (STH) mencapai 24% dari seluruh populasi atau lebih dari 1,5 juta orang (WHO, 2019). Angka kejadian infeksi cacing di Indonesia sekitar 2,5% sampai 62%. Tingginya infeksi parasit dikarenakan Indonesia merupakan negara dengan iklim tropis, kelembaban tinggi, higienitas dan sanitasi yang buruk (Setyowatiningsih & Surati, 2017)

Pemberian obat antelmintik (obat cacing) selama ini belum dirasa tepat, karena memiliki efek samping di antaranya gangguan pencernaan, nyeri epigastrium, sakit kepala, kelelahan dan insomnia. Anjuran penggunaan albendazole dan mebendazole untuk obat cacing dikontraindikasikan pada ibu hamil dan anak di bawah usia 2 tahun. Salah satu umbi yang dapat digunakan sebagai obat cacing adalah bawang putih (*Allium sativum* L) (Permenkes, 2017). Bawang putih (*Allium sativum* L.) memiliki kandungan senyawa kimia allixin, adenosin, ajoene, flavonoid, saponin, tuberholosida, dan scordinin (Pritacindy *et al.*, 2017). Penelitian sebelumnya, (Yusmira & Isti, 2015) melakukan penelitian uji potensi antelmintik ekstrak etanol 70% bawang putih (*Allium sativum* L.) terhadap cacing *Ascaridia galli*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bawang putih dapat berkhasiat antelmintik dengan hasil yang terbukti efektif membunuh cacing *Ascardia galli* dengan LC50 26,852%, LC90 65,85%, LT50 3,207 jam dan LT90 5,481 jam pada konsentrasi 100%, LT50 4,852 jam dan LT90 8,443 jam pada konsentrasi 50%, LT50 7,91 jam dan LT90 14,695 jam pada konsentrasi 25%, dan LT50 9,7 jam dan LT90 17.529 jam pada konsentrasi 12,5%. Analisis probit menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% bawang putih (*Allium sativum* L.) konsentrasi rendah membutuhkan waktu lebih lama untuk membunuh cacing.

Bawang putih mengandung saponin dan flavonoid yang berfungsi sebagai antelmintik. Mekanisme kerja saponin adalah menurunkan tegangan permukaan dinding membran cacing

dan mencegah aktivitas enzim asetilkolinesterase. Sehingga mengganggu metabolisme cacing dan menciptakan efek melumpuhkan pada otot cacing dan menyebabkan pembusukan/kematian pada cacing tersebut. Flavonoid dapat mendenaturasi protein jaringan cacing dan mendegenerasi sel saraf pada tubuh cacing sehingga menimbulkan efek litik pada cacing (Dibfiora *et al.*, 2021) Aroma dan rasa bawang putih yang khas membuat banyak orang enggan untuk tidak mengonsumsinya secara langsung. Membuat sediaan sirup merupakan alternatif menutupi aroma dan rasa bawang putih yang tidak sedap. Masyarakat juga lebih memilih menggunakan obat bentuk sirup untuk kenyamanan, utamanya pasien yang susah menelan obat dalam bentuk tablet atau kapsul, dan dapat menutupi rasa pahit dengan aroma menyenangkan yang disukai anak (Fardin *et al.*, 2022). Selain itu, pemanfaatan bahan alam dapat mengurangi penggunaan obat sintetik, yang dianggap lebih aman dan mudah ditemukan di masyarakat.

Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa ekstrak bawang putih efektif terhadap cacing *Ascaridia galli* yang terdapat pada ayam, namun belum ada yang mengujikannya pada cacing *Ascaris suum*, Goeze pada babi. *Ascaris suum*, Goeze memiliki anatomi morfologi dan siklus hidup yang hampir sama dengan cacing *Ascaris lumbricoides* yang ada dalam tubuh manusia. Sehingga, tujuan dari penelitian ini yaitu untuk membuat formulasi sirup yang stabil dan aman dari ekstrak bawang Putih (*Allium sativum* (L.) dan efektif terhadap cacing gelang (*Ascaris suum*, Goeze)

2. ALAT DAN BAHAN

2.1 Alat

Alat yang digunakan adalah ayakan mesh 16, aluminium foil, baskom plastik, batang pengaduk, botol coklat, cawan porselen, *climatic chamber* (Memmert®), cutter, gelas ukur (Iwaki®), gelas beaker (Iwaki®), hot plate (Maspion®), kertas perkamen, kulkas, oven simplisia, pH meter (pH.mV.Cond.TDS®), piknometer (Pyrex®), pinset, pipet tetes, rotary evaporator (Buchi®), sendok tanduk, tabung reaksi (Iwaki®), timbangan analitik (Fujitsu FS-AR210®), toples kaca, viscometer Brookfield (RV-01®), viscometer Ostwald (Pyrex®).

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan terdiri dari asam asetat, asam klorida, asam sulfat pekat, aquadest, cacing gelang (*Ascaris suum*, Goeze), ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L), strowberry essens, etanol 70% (Onemed), kertas saring, magnesium, natrium benzoat, NaCl 0,9% (Onemed), pirantel pamoat 1% (Combantrin®), sorbitol, sukralosa, red cherry.

3. METODE PENELITIAN

3.1. Penyiapan sampel

Sampel yang digunakan pada formula sediaan sirup yaitu bawang putih (*Allium sativum* L) yang diambil dari Pasar Daya, Makassar, Sulawesi Selatan.

3.2. Pembuatan simplisia bawang putih (*Allium Sativum* L.)

Sampel bawang putih (*Allium Sativum* L.) dibersihkan dari kulitnya, lalu disortasi basah kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih. bawang putih yang sudah bersih dipotong

kecil-kecil untuk mempermudah pengeringan, kemudian dikeringkan didalam oven pada suhu 45°C sampai benar benar kering, setelah kering Bawang putih disortasi kering dan itimbang, selanjutnya di serbukkan dengan cara ditumbuk dan diayak menggunakan ayakan mesh 16 (Rajab *et al.*, 2021)

3.3. Pembuatan ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.)

Ditimbang 500 gram simplisia yang telah diserbukkan, dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 5 L dengan perbandingan (1:10), selama 3x24 jam pada suhu kamar sambil sesekali diaduk, Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak cair, kemudian ekstrak di angin-anginkan hingga diperoleh ekstrak kental (Yusmira & Isti, 2015)

3.4. Skrining fitokimia ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.)

Skrining fitokimia untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak (Kusuma *et al.*, 2020), pengujian yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu uji kandungan flavonoid dan saponin.

3.4.1. Pengujian zat aktif flavonoid

Pengujian zat aktif flavonoid dilakukan pada ekstrak bawang putih (*A. sativum*). Sebanyak 0,5 gram ekstrak dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu dilarutkan dalam 5 mL etanol 70 %. Setelah tercampur rata, larutan sampel diambil 2 mL. Pada tabung yang berbeda, ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dengan 10 tetes HCl pekat dari sisi tabung kemudian dikocok perlahan-lahan. Kedua larutan, ekstrak dengan larutan magnesium dan HCl pekat dicampurkan. Perubahan warna yang terjadi dicatat, warna merah, jingga, kuning yang terbentuk menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Ikalinus *et al.*, 2015)

3.4.2. Pengujian zat aktif saponin

Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik positif mengandung saponin jika terbentuk buih setinggi 1-10 cm tidak kurang 10 menit dan pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang (Muthmainnah, 2017)

3.5. Penyiapan hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah cacing gelang (*Ascaris suum*, Goeze) yang diambil dari usus babi ditempat pemotongan babi di Moncongloe, Kab. Gowa, Sulawesi Selatan. Kemudian cacing dimasukkan kedalam wadah yang berisi larutan NaCl 0,9%. Cacing yang diperoleh dibilas berulang-ulang hingga bersih dengan larutan NaCl 0,9% (Intannia *et al.*, 2015)

3.6. Uji *in vitro*

Ekstrak bawang putih kemudian dibuat 3 kelompok perlakuan yaitu, larutan NaCl 0.9% sebagai kontrol negatif, pirantel pamoat 1% (Combantrin®) sebagai kontrol positif karena mekanisme kerjanya hampir sama dengan senyawa flavonoid dan saponin dalam ekstrak

bawang putih (*Allium sativum* L.) yaitu dengan cara menghambat depolarisasi neuromuskular sehingga mengaktivasi reseptor nikotinik asetilkolin yang akan menghasilkan paralisis spastik selain itu juga bekerja menghambat kolinesterase maka dari itu tubuh cacing akan mengalami kaku (Septianingsih *et al.*, 2021). Variasi konsentrasi yang digunakan yaitu 20% b/v, 25% b/v, dan 30% b/v. Hewan uji untuk setiap perlakuan adalah 6 ekor. Pengamatan kematian cacing dilakukan setiap jam dan selama 48 jam. Ekstrak yang paling efektif kemudian dibuat dalam formulasi sediaan sirup antelmentik (Kusuma *et al.*, 2020)

Tabel 1. Formulasi sediaan sirup ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.).

Bahan	Kegunaan	Konsentrasi (%)			Range
Ekstrak bawang putih	Zat aktif	30%	30%	30%	Berdasarkan hasil uji in vitro
Natrium benzoat	Pengawet	0,06%	0,06%	0,06%	0,02-0,5% (Rowe et al., 2009)
Strawberry Essens	Perasa	4,16%	4,16%	4,16%	
Red cherry	Pewarna	7 tetes	7 tetes	7 tetes	
Sukralosa	Pemanis	0,05%	0,05%	0,05%	0,03-0,24% (Rowe et al., 2009)
Sorbitol	Pemanis, pengental	20%	25%	30%	20-35% (Rowe et al., 2009)
Aquadest ad	Pembawa	100%	100%	100%	

3.7 Uji stabilitas sediaan sirup ekstrak bawang putih

Stabilitas sediaan sirup diuji dengan metode penyimpanan dipercepat dalam *climatic chamber*. Sediaan sirup disimpan pada suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam dan kemudian ditempatkan pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Pemrosesan ini disebut satu siklus. Pengujian dilakukan sebanyak 6 siklus sehingga waktu yang dibutuhkan adalah 12 hari (Sunnah et al., 2021) Kemudian dilakukan uji fisik yaitu organoleptis, homogenitas, pH, viskositas sebelum dan sesudah *cycling test*.

3.7.1. Uji organoleptis

Informasi yang dikumpulkan dalam uji organoleptik meliputi warna, bau dan rasa formula sirup (Syakri & Putra, 2017)

3.7.2. Pengukuran pH

pH sirup diukur dengan pH meter yang mana hasilnya akan ditampilkan dalam angka di layar. Pengujian diulang sebanyak 3 kali. pH sirup yang memenuhi syarat adalah antara 4 dan 7 (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2023)

3.7.3. Uji homogenitas

Uji homogenitas merupakan cara untuk menilai ada tidaknya gumpalan/partikel pada sediaan sirup Prosedur uji ini yaitu sampel dalam botol transparan yang diteruskan seberkas cahaya lampu. Kemudian diamati apakah masih ada partikel yang tidak larut (Herdaningsih & Kartikasari, 2022)

3.7.4. Pengukuran bobot jenis

Pengukuran bobot jenis dilakukan untuk menentukan bobot jenis sirup ekstrak bawang putih. Menurut Fardin *et al.*, 2022, berat jenis sirup yang baik adalah $\geq 1,2$ g/mL. Pengukuran berat jenis dilakukan dengan menggunakan piknometer.

3.7.5. Pengukuran viskositas

Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan alat viskometer Ostwald. Rentang viskositas yang baik untuk sediaan sirup yaitu 10-30 cps (Nuzzaibah & Ermawati, 2023)

3.7.6. Uji kejernihan

Pengujian dilakukan dengan mengamati sediaan secara visual. Hasil pengujian pembuatan sirup harus jernih dan tidak mengandung pengotor di dalamnya (Fickri, 2019)

3.7.7. Uji waktu tuang

Uji waktu tuang dengan cara menuangkan 50 mL sediaan dari botol dengan sudut 45° ke dalam gelas kimia setinggi 19,5 cm. Kemudian menghitung waktu dalam penuangan. Syarat waktu penuangan sediaan sirup adalah 2-3 detik (Herdaningsih & Kartikasari, 2022).

3.7.8. Uji volume terpindahkan

Persyaratan uji volume sediaan sirup yaitu tidak kurang dari 95%. Uji volume terpindahkan dengan cara sediaan sirup 25 mL dituangkan kembali ke dalam gelas ukur. Amati perubahan volume dan catat volume awal dan akhir. Sirup yang memenuhi persyaratan jika volume sediaan tidak kurang dari 95% (Herdaningsih & Kartikasari, 2022)

3.7.9. Uji hedonik

Uji kesukaan dilakukan menurut prosedur skala hedonik 1-5. Skala hedonik yang digunakan adalah 1 = saya tidak suka sama sekali, 2 = saya tidak suka, 3 = saya suka, 4 = saya suka, 5 = saya sangat suka. Pengujian ini dilakukan dengan sampel acak dan melibatkan sebanyak 20 responden, yaitu orang dewasa (17-21 tahun) karena usia dewasa lebih mampu mengekspresikan dengan baik dan efisien indra mereka dibandingkan anak-anak, baik pria maupun wanita, yang tidak memiliki masalah yang berhubungan dengan indra penglihatan dan penciuman atau penyakit seperti influenza. Setiap responden mengisi kuisioner tanggapan terhadap warna dan aroma dari sediaan sirup tersebut (Fitriana *et al.*, 2022).

3.4. Analisis data

Hasil pengamatan kematian cacing dianalisis dengan software SPSS versi 21. Hasil berat jenis, pH, waktu tuang dan viskositas dari sirup ekstrak bawang putih dianalisis secara statistik menggunakan software SPSS versi 21 (Uji Normalitas Kormogrov kemudian dilanjutkan uji Paired sample T-test).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil skrining fitokimia ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.) (Tabel 2) yang dilarutkan dalam etanol 70% menunjukkan hasil positif ditandai terbentuknya busa pada uji saponin dan menghasilkan warna jingga pada uji flavonoid. Hal ini sesuai dengan penelitian Dibfiora *et al.*, (2021) yang mengidentifikasi keberadaan senyawa flavonoid dan saponin pada ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.) yang direndam dalam etanol 70%. Hasil serupa juga

dilaporkan oleh penelitian Wijayanti et al., (2017).

Pengujian bebas etanol untuk memastikan bahwa ekstrak kental tersebut merupakan ekstrak murni dan tidak ada kandungan etanol di dalamnya. Hasil uji bebas etanol (Tabel 3) menunjukkan bahwa ekstrak kental bawang putih tidak berbau ester, sehingga dapat dikategorikan ekstrak bawang putih bebas etanol. Setelah penambahan asam asetat dan asam sulfat, ketiadaan bau ester saat ekstrak dipanaskan menegaskan bahwa ekstrak bawang yang tidak mengandung etanol.

Tabel 2. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.).

Senyawa	Pereaksi	Hasil uji	Ket
Saponin	Aquadest + HCl	Terbentuk busa yang stabil	Positif (+)
Flavonoid	Etanol 70% + Mg + HCl	Berwarna Jingga	Positif (+)

Hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.) dengan konsentrasi 20%, 25%, dan 30%, serta kontrol negatif dengan NaCl 0,9%, dan kontrol positif dengan pirantel pamoat 1%, menyebabkan mortalitas terhadap cacing *Ascaris suum*, Goeze. Berdasarkan hasil pengujian, konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% (LC₅₀) adalah 33,88%, sedangkan konsentrasi untuk kematian 90% (LC₉₀) adalah 93,33% (Gambar 1, Tabel 4).

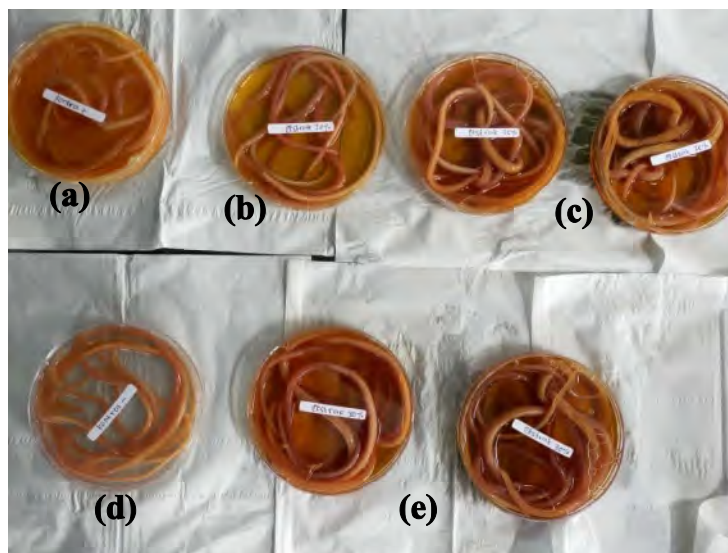
Tabel 3. Hasil uji bebas etanol ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.).

Identifikasi	Prosedur	Hasil
Uji bebas etanol	Ekstrak + H ₂ SO ₄ (P) + CH ₃ COOH → dipanaskan	Tidak tercium bau ester saat dipanaskan

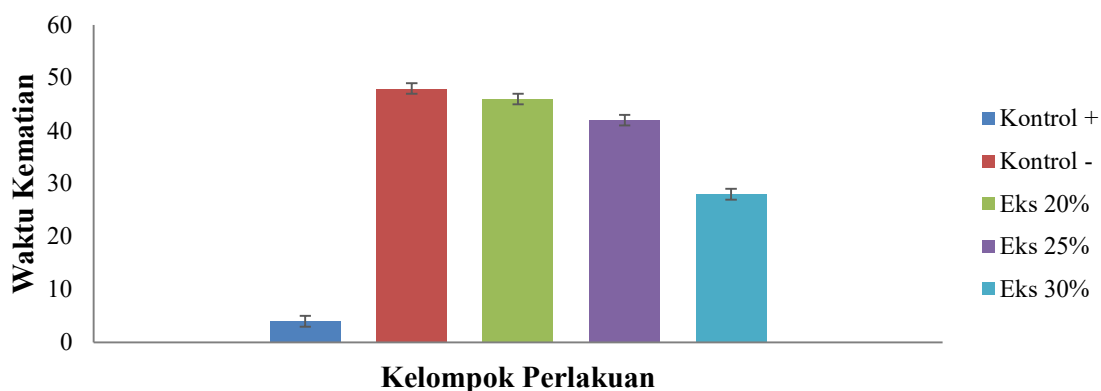
Waktu kumulatif untuk mencapai kematian 100% populasi cacing *Ascaris suum*, Goeze (Gambar 2) bervariasi di setiap kelompok. Kelompok kontrol positif menggunakan pirantel pamoat 1% kematian total terjadi dalam waktu 4 jam, sedangkan kontrol negatif dengan NaCl 0,9% tidak menyebabkan kematian cacing. Waktu kumulatif kematian cacing tercatat 46 jam untuk ekstrak bawang putih pada konsentrasi 20%, 42 jam pada konsentrasi 25%, dan 28 jam pada konsentrasi 30%. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 30% memiliki efektivitas lebih tinggi dalam memberikan dampak kematian pada cacing dibandingkan konsentrasi 20% dan 25%. konsentrasi 30% kemudian diformulasikan menjadi sirup antelmintik berbahan dasar ekstrak bawang putih.

Uji organoleptis meliputi pemeriksaan warna, aroma dan rasa secara visual sebelum dan sesudah penyimpanan. Hasil uji organoleptis sediaan sirup ekstrak umbi bawang putih yang sudah dilakukan pada 3 formula didapatkan hasil formula I, II, dan III sebelum penyimpanan menghasilkan rasa manis, warna merah pekat dan aroma khas strawberry. Setelah dilakukan penyimpanan dipercepat formula ke 3 formula mengalami ketidakstabilan yaitu warnanya berubah menjadi coklat kehitaman dan baunya lebih menyengat (Tabel 5). Menurut penelitian Suwita et al., 2012 menjelaskan bahwa penyebab dari perubahan warna disebabkan oleh reaksi kimia gula dan asam amino dari protein yang dikenal sebagai reaksi pencoklatan (*browning*)

atau reaksi Maillard. Reaksi Maillard terjadi bila bahan pangan mengalami pemanasan atau penyimpanan. Beberapa reaksi Maillard dapat menyebabkan warna kehitaman atau bau tidak sedap pada makanan tidak diharapkan.



Gambar 1. Pengujian aktivitas antelmintik ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.) secara *in vitro* pada cacing *Ascaris suum*, Goeze. Keterangan: Kontrol positif dengan pirantel pamoat 1% (a), Ekstrak bawang putih 20% (b), Ekstrak bawang putih 25% (c), Kontrol negatif dengan NaCl 0,9%, dan Ekstrak bawang putih 30% (e).



Gambar 2. Waktu kumulatif kematian cacing *Ascaris suum*, Goeze pada setiap kelompok perlakuan uji aktivitas antelmintik secara *in vitro* ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.).

Uji kejernihan sediaan sirup dilakukan dengan mengamati sediaan secara visual. Hasil pengujian sediaan sirup harus jernih dan tidak mengandung pengotor (Fickri, 2019). Hasil uji kejernihan sediaan sirup ekstrak bawang putih (Tabel 5) adalah semua sediaan sirup jernih/tidak terdapat partikel melayang pada sirup ekstrak bawang putih sebelum atau sesudah penyimpanan dipercepat.

Uji homogenitas digunakan untuk mengetahui gumpalan dan endapan yang terdapat pada sirup. Suatu sirup dikatakan homogen jika setelah dikocok terlihat tidak terjadi pengendapan

dalam larutan (Hidayati *et al.*, 2020). Hasil uji homogenitas (Tabel 5) menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak dan sorbitol pada sediaan tidak mempengaruhi homogenitas sirup. Semua sediaan sirup ekstrak bawang putih memenuhi persyaratan homogenitas karena ekstrak bawang putih dapat terlarut dalam bahan tambahan dari formula sirup. Semua formula sirup ekstrak bawang putih memiliki kualitas yang konsisten baik sebelum dan sesudah penyimpanan dipercepat yang ditunjukkan tidak terdapat gumpalan atau endapan dalam larutan.

Tabel. 4 Hasil analisis kematian cacing *Ascaris suum*, Goeze pada uji aktivitas antelmintik ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.).

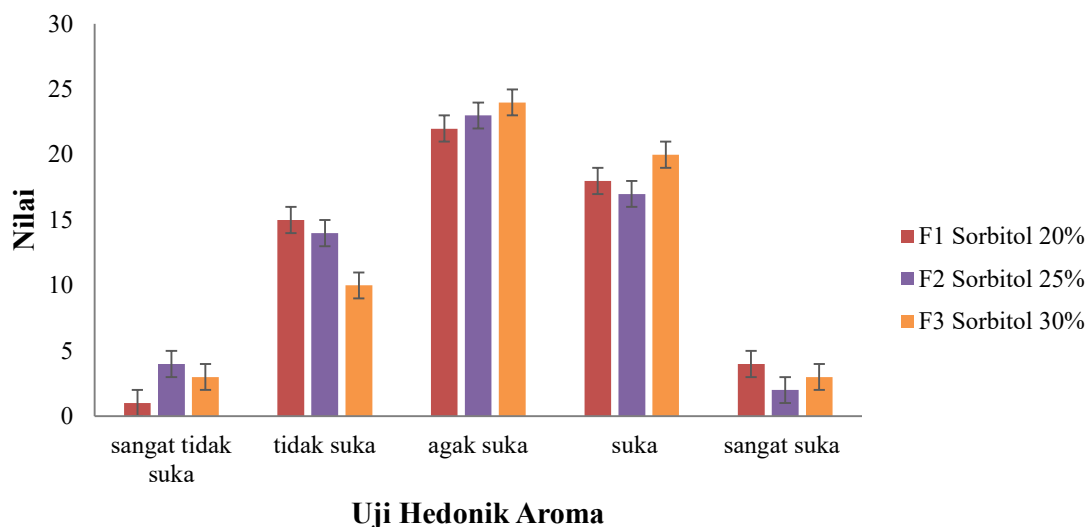
Perlakuan	Log Konsentrasi	Jumlah Total Cacing	Kematian Cacing (%)	Mulai Kematian (jam)	Kumulatif Kematian 100% (jam)	Nilai Probit	LC50	LC90
NaCl 0,9%	0	6	0	0	0			
Pirantel								
Pamoat 1 %	0	6	100	2	4			
Ekstrak 20%	1,30103	18	33,33	15	46	4,57	33,88	93,33
Ekstrak 25%	1,39794	18	16,67	14	42	4,04		
Ekstrak 30%	1,47712	18	55,56	8	28	5,14		

Uji pH merupakan parameter yang penting karena stabilnya pH larutan menunjukkan bahwa proses distribusi bahan aktif sediaan sudah merata (Husen *et al.*, 2015). pH yang disarankan adalah antara 4 sampai 7 (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2023). Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua formula sirup ekstrak bawang putih baik sebelum maupun setelah dilakukan penyimpanan dipercepat (Tabel 5) masih memenuhi rentang pH yang dipersyaratkan.

Tabel 5. Hasil evaluasi sediaan sirup ekstrak etanol bawang putih (*Allium Sativum* L.). Keterangan: Formula I = Sorbitol konsentrasi 20% (F1), Formula II = Sorbitol konsentrasi 25% (F2), dan Formula III = Sorbitol konsentrasi 30% (F3).

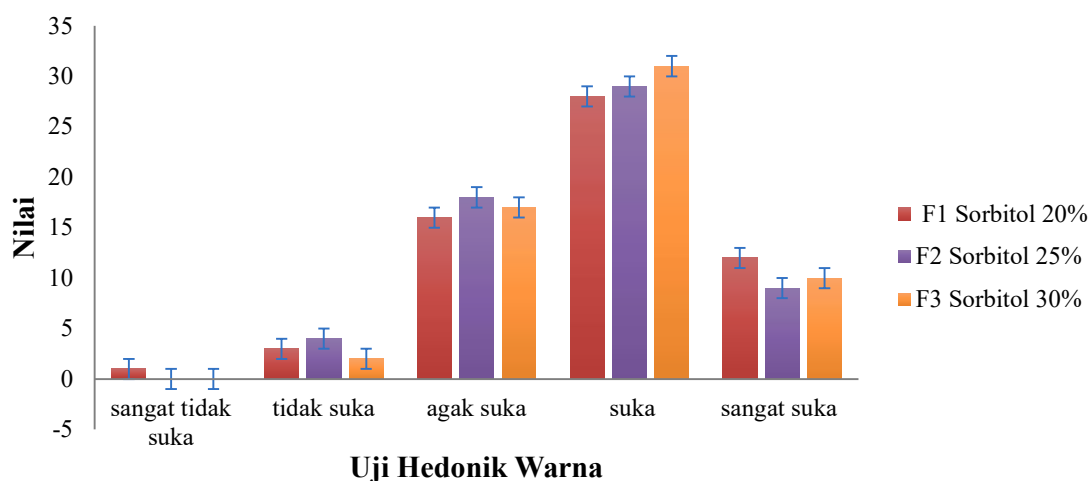
Evaluasi	Parameter kritis	Sebelum penyimpanan			Sesudah penyimpanan		
		F1	F2	F3	F1	F2	F3
Organoleptik	Aroma	Strawberry	Strawberry	Strawberry	Strawberry	Strawberry	Strawberry
	Warna	Merah	Merah	Merah	Coklat	Coklat	Coklat
	Rasa	Manis	Manis	Manis	Kehitaman	Kehitaman	Kehitaman
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Kejernihan	Jernih	Jernih	Jernih	Jernih	Jernih	Jernih	Jernih
pH	4-7	5,26±0,03	5,23±0,04	5,27±0,02	5,09±0,03	5,030±0,01	5,05±0,01
Viskositas	10-30 cps	2,41±0,15	3,24±0,16	7,28±0,13	2,65±0,13	6,79±0,39	8,40±0,8
Waktu tuang	2-3 detik	2,27±0,02	2,40±0,01	2,53±0,02	2,38±0,01	2,59±0,08	2,93±0,06
Volume terpindahkan	Tidak kurang dari 95%	100±0,00	100±0,00	99,16±0,00	100±0,00	99,16±0,00	96,00±0,00
Bobot jenis	≥ 1g/ml	1,15±0,01	1,17±0,01	1,19±0,01	1,16±0,00	1,19±0,00	1,23±0,01

Viskositas sediaan diukur menggunakan alat viskometer Ostwald. Tujuannya untuk menentukan kekentalan sediaan. Nilai viskositas yang besar menyatakan semakin kental suatu sediaan (Iskandar *et al.*, 2021). Hasil viskositas yang diperoleh pada F1, F2 dan F3 (Tabel 5) tidak memenuhi persyaratan viskositas yaitu 10-30 (Ermawati, 2021). Faktor yang menyebabkan produk tidak memenuhi persyaratan viskositas adalah karena dalam formula tidak ditambahkan bahan pengental.



Gambar 3. Uji hedonik aroma formulasi sirup bawang putih (*Allium sativum* L.)

Uji waktu tuang menentukan kemudahan menuang produk saat akan dikonsumsi nanti. Tes ini berkaitan erat dengan viskositas sediaan. Semakin kental produk sirup, semakin lama waktu penuangannya. Hal ini terlihat adanya peningkatan nilai waktu tuang dari formula 1 ke formula 3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua sediaan sirup ekstrak bawang putih baik sebelum maupun sesudah penyimpanan dipercepat (Tabel 5) masuk dalam rentang nilai waktu tuang sekitar 2 -3 detik (Hidayati *et al.*, 2020).



Gambar 4. Uji hedonik warna formulasi sirup bawang putih (*Allium sativum* L.)

Uji berat jenis menentukan kemurnian produk, terutama dalam bentuk larutan, dan memudahkan formulasi suatu obat (Fitriana *et al.*, 2022). Zat yang memiliki bobot jenis < 1 g/ml lebih ringan dari pada air dan zat yang memiliki bobot jenis >1 g/ml lebih berat dari pada air. Berat jenis sediaan sirup sebelum dan sesudah penyimpanan dipercepat (Tabel 5) memenuhi persyaratan yang ada yaitu ≥ 1 g/ml (Fardin *et al.*, 2022).

Uji hedonik melibatkan 20 partisipan yang mengevaluasi sediaan sirup melalui kuesioner dengan skala preferensi: sangat tidak suka (1), tidak suka (2), agak suka (3), suka (4) dan sangat suka (5). Hasil tertinggi pada uji hedonik aroma menunjukkan bahwa formula F3 mencapai persentase terbesar pada kategori “agak suka” yaitu sebesar 24% (Gambar 3). Sementara itu, untuk uji kesukaan terhadap warna, formula F3 juga mencatat persentase tertinggi pada kategori “suka” yaitu sebesar 31% (Gambar 4). Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa rata-rata panelis lebih menyukai sirup formula 3 (F3) dengan kandungan sorbitol 30%.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L) efektif membunuh cacing *Ascaris suum*, Goeze sebesar 61,11% pada konsentrasi 30%. Sirup ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.) stabil secara fisik dengan pH 5,05, bobot jenis 1,23 g/mL, waktu tuang 2,93, volume terpindahkan 96% dan uji viskositas 8,40 cps.

DEKLARASI KONFLIK KEPENTINGAN

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini

DAFTAR PUSTAKA

- Dibfiora, R., Sitomorang, E. U. M., & Firmansyah, R. D. (2021). Perbandingan Pengaruh Ekstrak Bawang Merah (*Allium cepa* L. Var. *aggregatum*) dan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) sebagai Antelmintik Cacing *Ascaris suum*. *Journal of Medicine and Health*, 3(1), 34–45.
- Ermawati. (2021). Pembuatan Dan Uji Stabilitas Fisik Sirup Ekstrak Kulit Buah Semangka (*Citrullus lanatus* Thunb.). *Journal. Yamasi.Ac.Id*, 5(2), 14–22. <http://>
- Fardin, Adnan, J., & Putrisari. (2022). Potential of bay leaf extract syrup (*Syzygium polyanthum*) as a candidate for standardized herbal medicine in lowering blood uric acid levels in mice. *Jurnal Farmasi Pelamonia*, 10–13.
- Fickri, D. Z. (2019). Formulasi Dan Uji Stabilitas Sediaan Sirup Anti Alergi Dengan Bahan Aktif Chlorpheniramin Maleat (Ctm). *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 1(1), 16–24. <https://doi.org/10.36932/j-pham.v1i1.4>
- Fitriana, M., Halwany, W., Kartika, Y., Anwar, K., Siswadi, S., Rizki, M. I., Rahmanto, B., & Andriani, S. (2022). Formulation and physical stability of syrup containing gaharu (*Aquilaria microcarpa* Baill.) leaves extract. *Jurnal Riset Industri Hasil Hutan*, 14(1), 33. <https://doi.org/10.24111/jrihh.v14i1.7647>
- Herdaningsih, S., & Kartikasari, D. (2022). Formulasi Sediaan Sirup Ekstra Etanol Daun Iler (*Coleus Atropurpureus* (L.) Benth) Dan Uji Aktivitas Mukolitik Secara In Vitro. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 5(1), 119–129. <https://doi.org/10.36387/jifi.v5i1.925>
- Hidayati, N., Styawan, A. A., & Khotimah, A. K. (2020). Formulasi dan Uji Sifat Fisis Sirup Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) (Parkinson ex F.A.Zorn) Fosberg. *The 12th University Research Colloquium 2020*, 438–444.
- Husen, R. W. M., Yamlean, P. V. Y., & Citraningtyas, G. (2015). Formulasi Dan Evaluasi Sirup Ekstrak Daun SIDAGURI (*Sida rhombifolia* L.). *PHARMACONJurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*, 4(3), 134–138.
- Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., & Setiasih, N. L. E. (2015). Skrining fitokimia ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71-79.
- Intannia, D., Amelia, R., Handayani, L., & Santoso, H. B. (2015). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol dan Ekstrak n -Heksan Daun Ketepeng Cina (*Cassia Alata* . L) terhadap Waktu

- Kematian Cacing Pita Ayam (Raillietina Sp .) Secara In Vitro. *Jurnal Pharmascience*, 2(2), 24–30.
- Iskandar, B., Lukman, A., Tartilla, R., Surboyo, M. D. C., & Leny. (2021). *Formulasi, Karakterisasi Dan Uji Stabilitas Mikroemulsi Minyak Nilam (Pogostemon cablin Benth)*. 6(2), 262–271.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2023). *Farmakope Indonesia Edisi VI*.
- Kusuma, I. Y., Octaviani, P., Muttaqin, C. D., Lestari, A. D., Rudiyaniti, F., & Sa'diah, H. (2020). Upaya Peningkatan Pemahaman Masyarakat Terhadap Beyond Use Date Didesa Kecepit, Kecamatan Punggulan, Kabupaten Banjarnegara. *Pelita Abdi Masyarakat*, 1(1. *Pelita Abdi Masyarakat*, 1(1), 6–10.
- Muthmainnah, B. (2017). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (Punica Granatum L.) Dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi Poltekkes Makassar*, 13(2).
- Nuzzaibah, H., & Ermawati, N. (2023). Formulasi dan Evaluasi Sediaan Sirup Antipiretik Ekstrak Daun Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia L.). *Jurnal Medika Nusantara*, 1(2), 25–39.
- Permenkes. (2017). *Penanggulangan Cacingan*. 11(1), 92–105.
- Pritacindy, A. P., Supriyadi, S., & Kurniawan, A. (2017). Uji Efektifitas Ekstrak Bawang Putih (Allium Sativum) Sebagai Insektisida Terhadap Kutu Rambut (Pediculus Capitis). *Preventia : The Indonesian Journal of Public Health*, 2(1), 1. <https://doi.org/10.17977/um044v2i1p1-9>
- Rajab, M. N., Edy, H. J., & Siampa, J. P. (2021). Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Etanol Bawang Putih (Allium sativum L.) Sebagai Antibakteri. *Pharmacon*, 10(3), 1009–1016.
- Rowe, C. R., Sheskey, P., & Quinn, M. (2009). Handbook of Pharmaceutical Excipients Sixth Edition. *Pharmaceutical Press*.
- Septianingsih, S. D., Hazar, S., & Suwendar. (2021). Studi Pustaka Aktivitas Antelmintik pada Beberapa Tanaman yang Berasal dari Suku Zingiberaceae. *Prosiding Farmasi*, 738–743. <http://dx.doi.org/10.29313/v0i0.30551>
- Setyowatiningsih, L., & Surati, S. (2017). Hubungan Higiene Sanitasi Dengan Kejadian Infeksi Soil Transmitted Helminths Pada Pemulung Di Tps Jatibarang. *Jurnal Riset Kesehatan*, 6(1), 40. <https://doi.org/10.31983/jrk.v6i1.2325>
- Sunnah, I., Erwiyani, A. R., Aprilliani, M. S., Maryanti, M., & Pramana, G. A. (2021). Aktivitas Antihiperurisemia dan Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Sirup Ekstrak Labu Kuning (Cucurbita maxima). *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 4(1). <https://doi.org/10.35473/ijpnp.v4i1.973>
- Suwita, I. K., Kristianto, Y., & Purwaningsih, F. Y. (2012). Pendugaan Umur Simpan Sirup Temulawak (Curcuma Xanthorrhiza Roxb), Madu Dan Ekstrak Ikan Gabus (Ophiocephalus Striatus) Dengan Model Arrhenius Dan Model Q10. *Agromix*, 3(2), 18–35. <https://doi.org/10.35891/agx.v3i2.768>
- Syakri, S., & Putra, D. N. (2017). Formulasi dan Uji Aktivitas Sirup Sari Buah Sawo Manila (Manilkara zapota Linn) Terhadap Beberapa Mikroba Penyebab Diare. *Jf Fik Unam*, 5(2), 72–83. http://103.55.216.56/index.php/jurnal_farmasi/article/view/3267
- WHO. (2019). Soil-transmitted helminth infections. <https://www.who.int/news-room/Fact-Sheets/Detail/Soil-Transmitted-Helminth-Infections>.
- Wijayanti, R., Rosyid, A., & Izza, I. K. (2017). Pengaruh ekstrak kulit umbi bawang putih (Allium sativum L.) Terhadap kadar kolesterol total darah tikus jantan galur wistar diabetes mellitus. *Pharmaciana*, 7(1), 9. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v7i1.4075>
- Yusmira, G., & Isti, S. (2015). Uji Daya Antihelmintik Ekstrak Etanol 70 % Bawang Putih (Allium Sativum L.) Terhadap Cacing. *Biomedika*, 7(1), 11–14.

Review: Cost-Effectiveness Analysis Metformin dan Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor Dibandingkan dengan Metformin dan Sulfonilurea pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2

Cost Effectiveness Analysis of Metformin dan Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors Compared to Metformin dan Sulfonylurea in Type 2 Diabetes Mellitus Patients

Nuring Novita Kusumawati* dan Tri Murti Andayani

Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

*Corresponding author: nuringnovita@gmail.com

Diterima: 6 September 2024; **Disetujui:** 26 November 2024; **Dipublikasi:** 9 Desember 2024

Abstrak

Prevalensi diabetes melitus tipe 2 (DMT2) meningkat, sehingga manajemen terapi yang efektif dan cost-effective sangat penting. Kombinasi metformin dengan dipeptidyl peptidase-4 inhibitor (DPP-4 inhibitor) dan metformin dengan sulfonilurea (SU) merupakan terapi lini kedua pada pasien DMT2, masing-masing memiliki kelebihan dan kekurangan terkait biaya dan efektivitas. Review ini bertujuan untuk membandingkan hasil penelitian cost-effectiveness dari kedua kombinasi tersebut guna membantu praktisi kesehatan dalam membuat keputusan pemilihan terapi dalam pengelolaan DMT2. Review ini menganalisis temuan dari berbagai jurnal yang dipublikasikan secara online, menggunakan database SCOPUS dan PubMed serta mengikuti skema PRISMA dan PICO. Penelitian yang memenuhi kriteria pencarian adalah 75 studi, 35 di antaranya berasal dari Scopus dan 40 PubMed. Terdapat beberapa artikel dikecualikan dan didapatkan 5 studi yang memenuhi kriteria akhir kemudian dilakukan penilaian kualitas berdasarkan standar CHEERS 2022. Analisis menunjukkan bahwa kombinasi DPP-4 inhibitor dan metformin lebih efektif dibandingkan kombinasi sulfonilurea dan metformin dalam mengelola diabetes melitus tipe 2, temuan ini didukung oleh pemelitan dari berbagai negara, menunjukkan pengurangan risiko hipoglikemia dan peningkatan kualitas hidup pasien. Tinjauan sistematis ini menunjukkan bahwa kombinasi DPP-4 inhibitor dengan metformin adalah terapi lini kedua yang *cost effective* dibandingkan dengan kombinasi sulfonilurea dan metformin untuk penderita diabetes melitus tipe 2.

Kata kunci: *Cost-effectiveness analysis*; Diabetes melitus; DPP-4 inhibitor; Farmakoekonomi; Metformin; Sulfonilurea

Abstract

The prevalence of type 2 diabetes mellitus (T2DM) is increasing, so effective and cost-effective therapeutic management is crucial. The combination of metformin with a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor (DPP-4 inhibitor) and metformin with a sulfonylurea (SU) is a second-line therapy for T2DM patients, each of which has advantages and disadvantages related to cost and effectiveness. This review aims to compare the results of cost-effectiveness studies of the two combinations to assist health practitioners in deciding therapy selection in managing T2DM. This review analyzes findings from various online journals, using the Scopus and PubMed databases and following the PRISMA and PICO schemes. Research that met the search criteria

was 75 studies, 35 of which came from Scopus and 40 from PubMed. Several articles were excluded, and 5 studies were found that met the final criteria; then, a quality assessment was carried out based on CHEERS 2022 standards. The analysis showed that combining DPP-4 inhibitors and metformin was more effective than combining sulfonylurea and metformin in managing type 2 diabetes mellitus. This finding is supported by research from various countries, demonstrating a reduced risk of hypoglycemia and improved patient quality of life. This systematic review shows that combining DPP-4 inhibitors with metformin is a cost-effective second-line therapy compared with the combination of sulfonylurea and metformin for people with type 2 diabetes mellitus.

Keywords: *Cost-effectiveness analysis; Diabetes mellitus; DPP-4 inhibitors; Metformin; Pharmacoeconomics; Sulfonylureas*

1. PENDAHULUAN

Diabetes melitus tipe 2 (DMT2) merupakan salah satu penyakit kronis yang prevalensinya semakin meningkat secara global. Di Indonesia, prevalensi DMT2 pada tahun 2013 dilaporkan sebesar 6.9% berdasarkan pengujian glukosa darah, sementara prevalensi berdasarkan diagnosis diabetes yang dilaporkan sendiri hanya sebesar 2.1% (PERKENI, 2021). Prevalensi DMT2 nasional (populasi usia 15 tahun ke atas) meningkat, dan sebagian besar kasus terjadi pada kelompok usia di atas 45 tahun (PERKENI, 2021). Pada tahun 2021, prevalensi DMT2 di Indonesia diperkirakan mencapai 10.6% dari populasi usia 20-79 tahun, dengan jumlah orang dengan diabetes yang tidak terdiagnosis mencapai 73.7% (PERKENI, 2021). Manajemen DMT2 seringkali melibatkan kombinasi dari berbagai obat antidiabetes untuk mencapai kontrol glikemik yang optimal. Dua kelas obat yang umum digunakan adalah dipeptidyl peptidase-4 inhibitor (DPP-4 inhibitor) dan sulfonilurea (SU), yang seringkali dikombinasikan dengan metformin sebagai terapi pilihan untuk pasien DMT2.

Meskipun kedua kombinasi obat ini telah terbukti efektif dalam mengendalikan kadar gula darah pada pasien dengan DMT2, namun pertimbangan biaya juga merupakan hal yang penting dalam pengambilan keputusan terapi (Mursalin & Soewondo, 2017). Dengan biaya perawatan kesehatan yang terus meningkat, evaluasi ekonomi menjadi aspek yang semakin relevan dalam pengelolaan DMT2.

Sejumlah penelitian sebelumnya telah mencoba untuk mengevaluasi *cost-effectiveness* dari penggunaan kombinasi metformin dengan DPP-4 inhibitor dibandingkan dengan kombinasi metformin dengan SU (Chien *et al.*, 2020; Gu *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2020). Namun, hasil-hasil dari penelitian ini masih bervariasi dan belum ada kesepakatan yang jelas mengenai Terapi DMT2 dari kedua kombinasi yang lebih *cost-effective*.

Terapi menggunakan DPP-4 inhibitor memiliki kelebihan dalam meningkatkan kontrol gula darah lebih baik daripada SU (Shaikh *et al.*, 2021). Selain itu, DPP-4 inhibitor juga dikaitkan dalam menurunkan berat badan dan memiliki risiko hipoglikemia yang rendah, sedangkan SU meningkatkan risiko hipoglikemia dan berat badan. Selain itu, DPP-4 inhibitor telah terbukti secara klinis lebih aman secara kardiovaskular dibandingkan SU. Biaya DPP-4 inhibitor lebih mahal dibandingkan dengan kombinasi SU (Fadini *et al.*, 2018). Sehingga,

metformin dan SU seringkali menjadi pilihan yang lebih ekonomis dalam memilih terapi untuk pasien T2D dibandingkan dengan DPP-4 inhibitor.

Oleh karena itu, tujuan penelitian ini untuk melakukan *systematic review* terhadap literatur yang ada, dengan fokus pada analisis *cost-effectiveness* kombinasi metformin dengan DPP-4 inhibitor dibandingkan kombinasi metformin dengan sulfonilurea (SU) dalam pengelolaan DMT2. Penelitian ini untuk menyajikan ulang dan menganalisis data secara komprehensif guna memberikan wawasan yang lebih mendalam terkait aspek ekonomi dari kedua strategi pengobatan. Hasilnya diharapkan dapat membantu praktisi kesehatan dan pengambil kebijakan dalam membuat keputusan yang lebih informatif dan terarah dalam manajemen DMT2. Meskipun kedua kombinasi obat ini telah terbukti efektif dalam mengendalikan kadar gula darah pada pasien DMT2, aspek biaya tetap menjadi pertimbangan penting dalam menentukan pilihan terapi. Mengingat peningkatan biaya perawatan kesehatan, evaluasi ekonomi menjadi aspek yang semakin relevan dalam pengelolaan DMT2.

2. METODE

Untuk melakukan tinjauan pustaka ini, metodologi tinjauan naratif digunakan, meliputi analisis temuan yang dilaporkan di beberapa jurnal oleh peneliti sebelumnya. Data bersumber dari berbagai artikel yang dipublikasikan secara online. Pencarian literatur dilakukan menggunakan *database* Scopus dan Pubmed dengan menggunakan beberapa kata kunci yaitu “*Cost-effectiveness*”, “*Pharmacoeconomics*”, “*Diabetes melitus*”, “*Metformin*”, “*Sulfonylurea*”, “*Dipeptidyl peptidase 4 inhibitor*” yang diterapkan ke *database*. Studi literatur ini pencarian material dilakukan dengan menggabungkan Istilah pencarian Boolean (“DAN”, “ATAU”). Pencarian database terbaru dilakukan pada 01 Mei 2024.

Alur pencarian jurnal dibatasi pada publikasi dalam rentang tahun 2009-2024. Skema pencarian telah disesuaikan dengan metode *Preferred Reporting Items for Systematic and Meta-analyses* (PRISMA) dan *Population, Intervention, Comparator, Outcome* (PICO) (Gambar 1).

P : Pasien diabetes melitus tipe 2

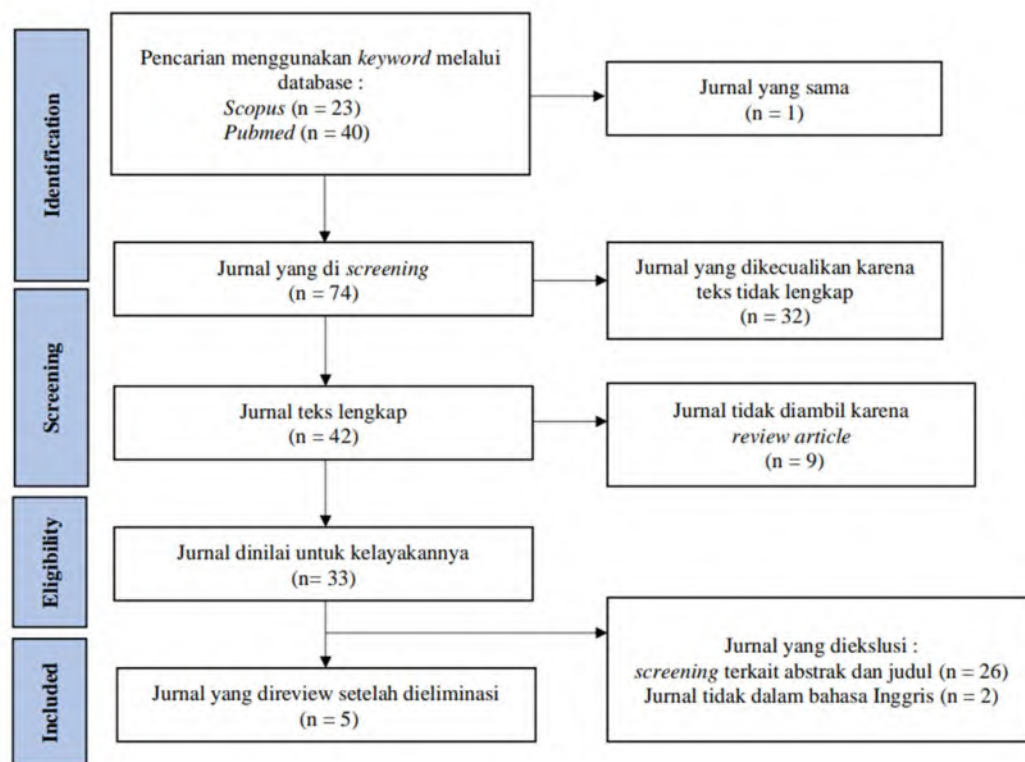
I : Terapi Metformin dan DPP-4 Inhibitor

C : Terapi Metformin dan Sulfonilurea

O : Penentuan *Cost-effectiveness*

Artikel yang dikecualikan adalah jurnal tidak dapat diakses lengkap dan ditulis dalam bahasa selain bahasa inggris. Review jurnal ini bertujuan untuk memperluas pengetahuan tentang *cost-effectiveness* terapi Metformin dan DPP-4 inhibitor dibandingkan dengan Metformin dan SU dengan menggabungkan dan mengevaluasi fakta-fakta yang valid dan akurat dari sumber ilmiah untuk memperoleh informasi baru. Mendeley digunakan untuk membuat kutipan dan bibliografi. Setelah ditelaah, diperoleh informasi dari penelitian tersebut di dalam bentuk tabel: (1) daftar pustaka meliputi tahun penerbitan, tahun penulis nama dan lokasi penelitian, (2) desain penelitian meliputi intervensi, perspektif, biaya, *time horizon*, dan tingkat diskonto dan (3) temuan studi. *Quality assessment* yang termasuk dalam *review* dilakukan berdasarkan *Consolidated Health Economic Evaluation Reporting Standards* (CHEERS) 2022

yang terdiri dari 28 item. Setiap bagian diberi satu poin, jika tidak terpenuhi persyaratan diberikan 0 poin. Klasifikasi skor CHEERS meliputi, sangat baik (>80), baik (70-80%), cukup (55-69) dan kurang (<55).



Gambar 1. Alur pencarian sumber dengan metode *Preferred Reporting Items for Systematic and Meta-analyses* (PRISMA) efektivitas biaya Metformin dan DPP-4 Inhibitor dibandingkan Metformin-Sulfonilurea.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 75 studi dari penelitian sebelumnya memenuhi kriteria, terdiri dari 35 artikel berasal dari Scopus dan 40 artikel dari PubMed. Setelah mengeliminasi 2 artikel duplikat, tersisa tersisa 74 artikel. Dari jumlah tersebut, 42 artikel yang memenuhi kriteria disaring lebih lanjut dengan hanya mempertahankan artikel yang tersedia dalam format *full text*. Sebanyak 9 artikel dihapus karena merupakan ulasan (*review*), 26 artikel tidak menilai efektivitas biaya kombinasi metformin dan DPP-4 inhibitor dibandingkan dengan metformin-sulfonilurea, dan 2 artikel tidak menggunakan bahasa inggris. Akhirnya, 5 artikel yang memenuhi kriteria dipilih untuk ditinjau dan dinilai secara menyeluruh. Proses seleksi artikel menggunakan Diagram PRISMA (Gambar 1). Standar PRISMA meliputi identifikasi, penyaringan, kelayakan, dan perolehan jurnal yang akan direview (Haddaway *et al.*, 2022).

Menurut *World Health Organization*, Diabetes adalah penyakit metabolik kronis yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah (atau gula darah). Prevalensi DMT2 meningkat dua kali lipat di seluruh dunia selama 40 tahun terakhir. Hal ini dikaitkan dengan peningkatan prevalensi obesitas yang mengkhawatirkan karena berkurangnya aktivitas fisik dan peningkatan konsumsi kalori (Schwinghammer *et al.*, 2023). Menurut WHO, BMI dalam

klasifikasi ideal dalam rentang 18.5–24.9. Pada Penelitian yang dilakukan oleh (Viriato *et al.*, 2014) di Portugis rata-rata BMI sebesar 31.39 kg/m² termasuk dalam kategori Obesitas kelas I. Obesitas bila dikaitkan dengan peningkatan distribusi lemak perut dan intra-abdomen serta peningkatan kandungan trigliserida intrahepatik dan intramuskular menjadi faktor risiko utama pradiabetes dan DMT2 karena menyebabkan resistensi insulin dan disfungsi sel β . Oleh karena itu, peningkatan prevalensi obesitas di seluruh dunia telah menyebabkan peningkatan prevalensi DMT2 secara bersamaan (Gong *et al.*, 2012).

Menurut Isnaini and Ratnasari, (2018), Faktor usia mempengaruhi penurunan pada semua sistem tubuh, tidak terkecuali sistem endokrin. Menurut IDF (2021), diperkirakan ada 485 juta orang dewasa berusia 20–79 tahun dengan diabetes pada tahun 2021. Sejalan dengan penelitian dari Gu *et al.*, (2015) di China rata-rata usia pasien dengan diabetes melitus adalah 48.51 tahun dan penelitian yang dilakukan di Jerman dan Swedia usia rata-rata sekitar 57,55 tahun (Granström *et al.*, 2012 ; Erhardt *et al.*, (2012)). Sedangkan penelitian yang dilakukan Viriato *et al.*, (2014) usia rata-rata pasien dengan diabetes di Portugis adalah 63 tahun, sesuai dengan penelitian yang dilakukan Gardete-Correia *et al.*, (2010), prevalensi tertinggi pasien diabetes melitus di Portugis yaitu pada usia 60-79 tahun (26.3%). Menurut IDF (2021) prevalensi diabetes pada wanita berusia 20-79 tahun sedikit lebih rendah dibandingkan pada pria (10,2% vs 10,8%). Pada tahun 2021, terdapat 17,7 juta lebih banyak pria dibandingkan wanita yang menderita diabetes. Sejalan dengan ketiga penelitian yang dilakukan di Portugis, Swedia dan Jerman didapatkan kejadian diabetes pada laki-laki (52%) lebih tinggi daripada wanita (48%) (Viriato *et al.*, 2014 ; Granström *et al.*, 2012 ; Erhardt *et al.*, 2012).

Tujuan terapi pada diabetes adalah untuk mencapai kontrol glikemik yang optimal (berdasarkan usia, kondisi komorbiditas, dan preferensi pasien), mengurangi timbulnya dan perkembangan komplikasi terkait diabetes, mengatasi faktor risiko kardiovaskular secara agresif, dan meningkatkan kualitas hidup. Kontrol glikemik yang intensif mencegah timbulnya dan memperlambat perkembangan komplikasi mikrovaskuler (misalnya neuropati, retinopati, dan nefropati) (Schwinghammer *et al.*, 2023). Kontrol glikemik yang intensif mencegah timbulnya dan memperlambat perkembangan komplikasi mikrovaskuler (misalnya neuropati, retinopati, dan nefropati) (Schwinghammer *et al.*, 2023). Salah satu langkah awal dalam penanganan pasien DMT2 adalah dengan terapi pemberian obat tunggal. Apabila obat yang diberikan tidak dapat memenuhi target atau tidak dapat membantu mengontrol kadar gula darah dalam waktu tiga bulan, maka terapi ditingkatkan menjadi kombinasi 2 jenis obat. Bila masih belum mencapai kendali ditingkatkan menjadi kombinasi 3 jenis obat (PERKENI, 2021).

Pemantauan hasil pengobatan DMT2 dilakukan dengan pemeriksaan GDS, GDP, dan HbA1c. Metformin adalah biguanide yang digunakan sebagai pengobatan lini pertama DMT2 dan efektif sebagai monoterapi (Baker *et al.*, 2020). Metformin umumnya memiliki efek menguntungkan dalam meningkatkan kontrol glikemik, memiliki tolerabilitas yang baik, efek samping minimal, dan harga terjangkau. Namun, penggunaan metformin sebagai monoterapi sering kali tidak cukup untuk mencapai kontrol metabolik yang optimal. Selain itu, pada beberapa pasien, efektivitas kontrol glikemik menurun meskipun menggunakan metformin.

Tabel 1. Karakteristik studi literatur efektivitas biaya Metformin dan DPP-4 Inhibitor dibandingkan Metformin-Sulfonilurea.

Negara, Penulis, Tahun	Populasi	Tahun Penelitian	Intervensi & Pembanding	Perspektif	Time Horizon	Discount Rate (%)
Swedia, Granström <i>et al.</i> , 2012	58 tahun	2008	Metformin dan Sulfonilurea, Metformin dan Saxagliptin	Masyarakat	Lifetime	3%
Germany, Erhardt <i>et al.</i> , 2012	58 tahun	2009	Metformin dan Sulfonilurea, Metformin dan Saxagliptin	Pembayar	40 tahun	3%
Portugis, Viriato <i>et al.</i> , 2014	63 tahun	2013	Metformin dan Sulfonilurea, Metformin dan Vildagliptin	Portugis Healthcare	Lifetime	5%
China,Gu <i>et al.</i> , 2015	49 tahun	2014	Metformin dan Saxagliptin, Metformin dan Glimepirid	Pembayar	Lifetime	5%
US, Kwon <i>et al.</i> , 2018	>60 tahun	2015	Metformin dan Sulfonilurea, Metformin dan DPP-4 inhibitor	US Healthcare	25 tahun	3%

Tabel 2. Penilaian CHEERS efektivitas biaya Metformin dan DPP-4 Inhibitor dibandingkan Metformin-Sulfonilurea.

Negara, Penulis, Tahun	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	%
Swedia, Granström <i>et al.</i> , 2012	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	1	82
Germany, Erhardt <i>et al.</i> , 2012	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	85
Portugis, Viriato <i>et al.</i> , 2014	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	85
China, Gu <i>et al.</i> , 2015	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	89
US, Kwon <i>et al.</i> , 2018	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	85

Tabel 3. Analisis studi literatur efektivitas biaya Metformin dan DPP-4 Inhibitor dibandingkan Metformin-Sulfonilurea. Keterangan: Yuan Tiongkok (¥), US Dollar (\$); Euro (€); Swedish Kron (SEK).

Negara, Penulis, Tahun	Sensitivitas Analisis	Luaran Klinis / QALY	Biaya	ICER	Cost Effective
Swedia, Granström <i>et al.</i> , 2012	One way, PSA	QALYs Metformin dan Sulfonilurea: 12.46 tahun Metformin dan Saxagliptin: 12.56 tahun	Metformin dan Saxagliptin: SEK 116,211 Metformin dan Sulfonilurea: SEK 106,727	Metformin dan Saxagliptin vs Metformin dan Sulfonilurea: SEK 91260/QALY	Metformin dan Saxagliptin
Germany, Erhardt <i>et al.</i> , 2012	One way, PSA	QALYs Metformin dan Sulfonilurea: 13.31 tahun Metformin dan Saxagliptin: 13.42 tahun	Metformin dan Saxagliptin: € 38. 163 Metformin dan Sulfonilurea: € 36.550	Metformin dan Saxagliptin vs Metformin dan Sulfonilurea: €241.896/ life year dan € 13,931/QALY	Metformin dan Saxagliptin
Portugis, Viriato <i>et al.</i> , 2014	One way, PSA	QALYs Metformin dan Sulfonilurea: 5.6401 tahun Metformin dan Vildagliptin: 5.7681 tahun	Metformin dan Sulfonilurea: € 76.70 Metformin dan Vildagliptin: € 662.74	Metformin dan Vildagliptin vs Metformin dan Sulfonilurea: € 9072 per QALY	Metformin dan Vildagliptin
China, Gu <i>et al.</i> , 2015	One way, PSA	QALYs Metformin dan Glimepirid: 13 tahun Metformin dan Saxagliptin: 14.01 tahun	Metformin dan Glimepirid: ¥ 4231.07 Metformin dan Saxagliptin: ¥ 5209.03	Metformin dan Saxagliptin vs Metformin dan Glimepirid: ¥43,883/QALY dan ¥1,710,926/life year	Metformin dan Saxagliptin
Amerika Serikat, Kwon <i>et al.</i> , 2018	One way, PSA	Life years gained Metformin dan DPP-4 Inhibitor: 12.42 tahun Metformin dan Sulfonilurea: 11.81 tahun	Metformin dan DPP-4 Inhibitor: \$18.853 Metformin dan Sulfonilurea: \$7.004	Metformin dan DPP-4 Inhibitor vs Metformin dan Sulfonilurea: \$19,420/life year	Metformin dan DPP-4 Inhibitor

Kondisi tersebut mendorong perlunya terapi kombinasi dengan menambahkan senyawa sekunder ke dalam regimen pengobatan metformin, sulfonilurea (SU) menjadi salah satu pilihan tambahan yang paling sering digunakan. Obat golongan Sulfonilurea (SU) seperti glimepiride, glipizide, glibenclamide, dan gliquidone berperan meningkatkan sekresi insulin oleh sel beta. Alasan kombinasi terapi ini adalah SU menstimulasi sekresi insulin, yang merupakan mekanisme pelengkap untuk peningkatan sensitivitas insulin oleh metformin. Namun, kombinasi dengan SU dapat meningkatkan risiko hipoglikemia. DPP-4 inhibitor sebagai terapi baru untuk DM2 didasarkan pada pencegahan proses inaktivasi peptida bioaktif dan terbukti meningkatkan kontrol glikemik secara efisien bila ditambahkan ke terapi metformin pada pasien dengan kontrol glikemik yang tidak memadai. Obat ini menurunkan kadar HbA1c sebesar 0,65%-1,1% dengan durasi hingga 52 minggu dalam kombinasi versus terapi berkelanjutan dengan metformin saja. Kombinasi penghambatan DPP-4 dan metformin telah terbukti sangat dapat ditoleransi dengan risiko hipoglikemia yang sangat rendah. Oleh karena itu, penghambatan DPP-4 yang dikombinasikan dengan metformin merupakan terapi kombinasi yang efisien, aman dan dapat ditoleransi sebagai pilihan terapi lini kedua untuk DM2. Penghambat DPP-4 yang mendapat persetujuan FDA yaitu, sitagliptin, saxagliptin, linagliptin, dan alogliptin (Ahrén, 2008).

Cost effectiveness analysis (CEA) digunakan ketika dua atau lebih pendekatan terapeutik memiliki efektivitas yang berbeda. Biaya diukur dalam bentuk uang dan efektivitas diukur secara independen dan dapat diukur dalam bentuk hasil klinis, misalnya, GDS, GDP, GD2PP, HbA1c, dan QALY. Biaya obat-obatan merupakan hal yang penting karena merupakan bagian penting dari total biaya layanan kesehatan biasanya 10%-15% di negara maju dan hingga 35%-65% di beberapa negara berkembang (Satibi, 2014). Oleh karena itu, perlu menilai biaya sebenarnya dari penggunaan obat tertentu terhadap manfaat kesehatan atau luaran klinis yang dihasilkan. Menilai manfaat kesehatan yang diperoleh dari suatu obat memerlukan perbandingan antara efektivitas dengan biaya. Perbandingan biasanya dinyatakan sebagai rasio efektivitas biaya tambahan (ICER), yang merupakan biaya untuk memperoleh luaran klinis yang dibandingkan dengan terapi lain. Hal tersebut dapat bermanfaat mengurangi biaya pengobatan secara keseluruhan dengan memanfaatkan pemilihan terapi yang lebih efisien (Rai & Goyal, 2017). Hasil dari penilaian *Quality assessment* dengan berdasarkan *Consolidated Health Economic Evaluation Reporting Standards* (CHEERS) 2022 (Tabel 2) menunjukkan hasil kelima jurnal mendapatkan nilai lebih dari 80% yang menunjukkan sangat baik.

Salah satu faktor pertimbangan penting dalam farmakoekonomi adalah perspektif farmakoekonomi. Perspektif farmakoekonomi mempertimbangkan siapa yang membayar biayanya dan siapa yang menerima manfaatnya. Perspektif terdiri dari : pembayar pihak ketiga swasta, administrator, penyedia layanan kesehatan, lembaga pemerintah, atau bahkan pasien secara individu (Rai & Goyal, 2017). Karakteristik studi literatur efektivitas biaya Metformin dan DPP-4 Inhibitor dibandingkan Metformin-Sulfonilurea (Tabel 1) menunjukkan bahwa analisis yang dilakukan oleh Kim *et al.*, (2020) menyatakan perspektif yang digunakan dalam studi *cost-effectiveness analysis* CEA tidak dapat ditentukan sebesar 7%, sementara perspektif

yang paling sering digunakan adalah perspektif *healthcare*. Sebagian besar pemerintah (67%) merekomendasikan penggunaan perspektif sektor *healthcare* atau perspektif pembayar. Pada penelitian Viriato *et al.*, (2014) dan Kwon *et al.*, (2018) menggunakan perspektif *Healthcare* sesuai negara penelitian. Penelitian yang dilakukan di China menggunakan perspektif pembayar atau dalam hal ini asuransi kesehatan (Gu *et al.*, 2015). Pada penelitian yang dilakukan di Jerman juga menggunakan perspektif pembayar data yang diambil dari dana sakit nasional dan mempertimbangkan rekomendasi dari *Institut for Quality and Efficiency in Health Care* (IQWiG) Erhardt *et al.*, (2012). Sedangkan penelitian yang dilakukan Kwon *et al.*, (2018) menggunakan perspektif US *Healthcare*. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan di Swedia menggunakan perspektif Masyarakat (Granström *et al.*, 2012).

Discount rate (Tabel 1) yang digunakan penelitian Viriato *et al.*, (2014) dan Gu *et al.*, (2015) sebesar 5%, sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Kwon *et al.*, (2018), Granström *et al.*, (2012), dan Erhardt *et al.*, (2012) ditetapkan *discount rate* sebesar 3%. Pemilihan *discount rate* biasanya disesuaikan dengan ketentuan dari negara peneliti Viriato *et al.*, (2014), atau dapat didasarkan pada rekomendasi dari lembaga kesehatan yang umum digunakan dalam analisis ekonomi kesehatan, seperti *National Institute for Health and Care Excellence* (NICE) di Inggris (Granström *et al.*, 2012).

Ketiga penelitian menetapkan *time horizon* (Tabel 1) yang digunakan yaitu *lifetime horizon* karena memungkinkan untuk memperhitungkan semua biaya dan manfaat yang terkait dengan kedua intervensi yang dibandingkan selama periode waktu yang panjang, sehingga memberikan gambaran yang komprehensif mengenai efektivitas biaya dari masing-masing intervensi Viriato *et al.*, (2014). Menurut Gu *et al.*, (2015), *lifetime horizon* dipilih untuk memperhitungkan dampak jangka panjang dari kedua terapi tambahan pada pasien DMT2 di China. Penggunaan *lifetime horizon* dalam penelitian ini dapat memberikan gambaran yang komprehensif terkait *cost-effectiveness* saxagliptin dan glimepiride dalam pengelolaan DMT2, serta memperhitungkan efek jangka panjang terhadap biaya dan efektivitas pengobatan. Kelompok simulasi terdiri dari 1000 pasien selama jangka waktu 40 tahun atau *lifetime horizon* karena *baseline* usia pada penelitian adalah 48.51 tahun. Pemilihan *time horizon* seumur hidup dalam penelitian juga memungkinkan untuk mengevaluasi dampak jangka panjang dari penggunaan saxagliptin dan metformin pada pasien DMT2, termasuk estimasi biaya dan *Quality-Adjusted Life Years* (QALYs) selama periode waktu yang panjang. Pemilihan ini memberikan gambaran yang komprehensif tentang efektivitas dan efisiensi dari strategi pengobatan yang dipilih dalam jangka panjang (Granström *et al.*, 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Kwon *et al.*, (2018) dan Erhardt *et al.*, (2012) menetapkan *time horizon* yang digunakan adalah 25 tahun dan 40 tahun. Menurut Kwon *et al.*, (2018) penetapan *time horizon* penelitian pada 25 tahun karena data kelangsungan hidup pasien hanya tersedia sampai mencapai usia 85 tahun. Rasio bahaya kematian diperkirakan berdasarkan data yang diambil dari hasil percobaan dua tahun.

Hasil analisis studi literatur efektivitas biaya Metformin dan DPP-4 Inhibitor dibandingkan Metformin-Sulfonilurea (Tabel 3) menunjukkan penelitian yang dilakukan oleh

Granström *et al.*, (2012) di Swedia bertujuan untuk melihat efektivitas biaya saxagliptin (Onglyza®), penghambat DPP-4, ditambah metformin dibandingkan dengan SU (Glipizide) dan metformin pada pasien Swedia yang tidak terkontrol dengan baik dengan metformin saja. Data klinis dan biaya dikumpulkan dari penelitian sebelumnya dan sumber data sekunder lain yang tersedia. Biaya langsung ini diperoleh dari data biaya yang tersedia untuk Swedia dan dihitung dalam mata uang SEK (Swedish Krona). Biaya yang dinilai meliputi, biaya obat dan biaya yang digunakan untuk pengobatan terkait komplikasi penyakit pada pasien. Analisis sensitivitas menggunakan analisis probabilistik dan *one-way* dengan hasil sensitivitas kuat. Hasil penelitian yang dilihat dari perspektif masyarakat, saxagliptin plus metformin lebih baik daripada metformin dan SU pada pasien dengan kontrol glikemik yang tidak memadai dengan metformin saja, terutama pada pasien yang kelebihan berat badan atau berisiko tinggi mengalami hipoglikemia. Hasil penelitian didapatkan biaya per QALY yang diperoleh dengan saxagliptin dan metformin adalah sekitar SEK 91,000. Pasien yang menggunakan saxagliptin dan metformin mendapatkan rata-rata 0,10 QALYs, dengan biaya tambahan sekitar SEK 9500.

Penelitian Erhardt *et al.*, (2012) yang dilakukan di Jerman (Tabel 3) bertujuan untuk mengevaluasi dampak ekonomi jangka panjang dari saxagliptin vs SU sebagai terapi lini kedua bila digunakan dalam kombinasi dengan metformin setelah kegagalan pengobatan monoterapi dengan metformin pada pasien DMT2 di Jerman. Data klinis dan biaya dikumpulkan dari penelitian sebelumnya dan sumber data sekunder lain yang tersedia. Biaya dinilai berdasarkan harga obat yang tersedia sesuai dengan daftar harga obat resmi terbaru, dengan biaya perawatan harian yang ditimbang berdasarkan dosis harian yang digunakan. Biaya kejadian fatal didasarkan pada biaya rumah sakit dan perawatan darurat, sedangkan untuk kejadian nonfatal diperoleh dari literatur yang telah diterbitkan. Analisis sensitivitas menggunakan analisis probabilistik dan *one-way* dengan hasil sensitivitas kuat. Hasil pengobatan metformin dan saxagliptin dinilai lebih baik dibandingkan dengan metformin dan SU sebagai terapi lini kedua jangka panjang dalam pengobatan DMT2 di Jerman. Didapatkan pengobatan dengan saxagliptin dan metformin dikaitkan dengan insiden kejadian hipoglikemik simptomatik dan berat yang lebih rendah, menghasilkan manfaat tambahan sebesar 0,12 QALYs dan rasio efektivitas biaya tambahan (ICER) sebesar €13.931 per QALY yang diperoleh dibandingkan dengan SU dan metformin (tahun penetapan biaya 2009). Pengurangan semua komplikasi makro dan mikrovaskuler pada pasien yang menerima saxagliptin dan metformin dibandingkan dengan SU dan metformin.

Penelitian Viriato *et al.*, (2014) yang dilakukan di Portugis (Tabel 3) bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas biaya vildagliptin dan metformin vs SU generik dan metformin pada pasien DMT2, yang tidak dikontrol dengan metformin, dari perspektif sistem layanan kesehatan Portugis dengan kohort studi. Biaya yang dinilai meliputi, biaya obat, biaya yang digunakan untuk pengobatan terkait penyakit penyerta, biaya efek samping, dan biaya pemantauan terapi pada pasien. Penelitian ini memperkirakan komplikasi dan kematian mikrovaskuler dan makrovaskuler dalam siklus tahunan. Perkiraan biaya hanya didasarkan pada biaya medis langsung dan menggunakan analisis sensitivitas satu arah serta analisis

sensitivitas probabilistik. Penambahan terapi vildagliptin dibandingkan SU mengakibatkan peningkatan biaya obat namun dapat mengurangi biaya efek samping, penanganan morbiditas, dan pemantauan pasien. Pengobatan dengan metformin dan vildagliptin menghasilkan peningkatan rata-rata per pasien sebesar 0,1279 tahun hidup yang disesuaikan dengan kualitas (QALYs) dan peningkatan rata-rata biaya total per pasien sebesar €1161, memberikan rasio efektivitas biaya tambahan (ICER) sebesar €9072 per QALY. Angka kejadian kematian pada periode 5 tahun pertama dihasilkan lebih rendah untuk pasien dengan terapi metformin dan vildagliptin (2089 vs 2149), angka harapan hidup pada pasien dengan terapi metformin dan vildagliptin lebih besar daripada metformin dan SU (7.75 vs 7.66 tahun), dan insidensi efek samping lebih rendah terkait hipoglikemia dan penambahan berat badan, sehingga metformin dan vildagliptin menjadi pilihan pengobatan yang hemat biaya.

Penelitian Gu *et al.*, (2015) yang dilakukan di China (Tabel 3) bertujuan untuk memperkirakan efektivitas biaya jangka panjang dari saxagliptin dan metformin dibandingkan glimepiride dan metformin pada pasien dengan DMT2 yang tidak terkontrol dengan metformin. Biaya yang dinilai meliputi, biaya obat dan biaya yang digunakan untuk pengobatan terkait komplikasi penyakit pada pasien. Peneliti menggunakan model Cardiff untuk mensimulasikan perkembangan penyakit dan memperkirakan efek jangka panjang pengobatan pada pasien. Penelitian ini menggunakan analisis sensitivitas satu arah dan probabilistik yang didapatkan hasilnya kuat. Kombinasi saxagliptin dan metformin memiliki prediksi insiden kardiovaskular dan kejadian hipoglikemia yang lebih rendah, peningkatan jumlah tahun hidup, serta penurunan total biaya dibandingkan dengan glimepiride dan metformin. Saxagliptin dan metformin memiliki prediksi insiden kardiovaskular yang lebih rendah dan kejadian hipoglikemia serta penurunan total biaya dibandingkan dengan glimepiride dan metformin (¥241,072,807 vs ¥285,455,177). Ada peningkatan jumlah tahun hidup yang disesuaikan dengan kualitas (QALYs; 1,01/pasien) dan tahun hidup (LYs; 0,03/pasien) yang diperoleh dengan saxagliptin dan metformin dibandingkan dengan glimepiride dan metformin, dan peningkatan biaya saxagliptin dan metformin dibandingkan glimepiride dan metformin (– ¥44,382) menghasilkan - ¥43,883/QALY dan ¥1,710,926/LY diperoleh dengan saxagliptin dan metformin. Sehingga saxagliptin dan metformin lebih hemat biaya dan dapat ditoleransi dengan baik dengan efek samping yang lebih sedikit dibandingkan dengan glimepiride dan metformin.

Penelitian Kwon *et al.*, (2018) yang dilakukan di *United States* (US) (Tabel 3) bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas biaya jangka panjang dari DPP-4 inhibitor dibandingkan dengan SU sebagai terapi lini kedua yang dikombinasikan dengan metformin pada pasien DMT2. Penelitian ini menggunakan Model Markov. Data klinis dan biaya dikumpulkan dari penelitian sebelumnya dan sumber data sekunder lain yang tersedia. Biaya yang dinilai meliputi, biaya obat, biaya medis terkait kejadian hipoglikemia, biaya medis terkait penambahan berat badan, dan biaya medis terkait kejadian kardiovaskular. Analisis sensitivitas menggunakan analisis probabilistik dan *one-way* dilakukan untuk mengevaluasi dampak ketidakpastian pada hasil dan menunjukkan bahwa temuan penelitian tidak sensitif terhadap perubahan parameter yang digunakan dalam model sehingga diperlukan lebih banyak penelitian

yang menilai efektivitas biaya dari semua jalur pengobatan T2D alternatif jangka panjang yang didasarkan di Amerika Serikat. Hasil pengobatan metformin dan DPP-4 inhibitor dinilai lebih hemat biaya dibandingkan dengan metformin dan SU sebagai terapi lini kedua jangka panjang dalam pengobatan DMT2 dari perspektif US *Healthcare*. Didapatkan potongan biaya tambahan metformin dan DPP-4 inhibitor dibandingkan dengan metformin dan SU adalah \$11,849 dan tambahan tahun hidup yang diperoleh adalah 0,61, sehingga menghasilkan ICER sebesar \$19,420 per tahun hidup yang diperoleh untuk pasien yang menjalani pengobatan metformin dan DPP-4 inhibitor. Estimasi ICER dalam analisis sensitivitas probabilistik adalah \$19,980 per tahun kehidupan yang diperoleh. Temuan penelitian memiliki potensi untuk memberikan bukti berharga kepada dokter dan pembayar pihak ketiga terkait persepsian dan pemanfaatan terapi lini kedua yang hemat biaya setelah kegagalan monoterapi metformin dalam pengobatan DMT2.

4. KESIMPULAN

Hasil penelitian dari negara China, Portugis, Swedia, Sweden, dan US didapatkan bahwa metformin dan DPP4-inhibitor lebih *cost effective* sebagai terapi lini kedua yang dinilai lebih hemat biaya dibandingkan dengan meformin dan SU. Analisis efektivitas biaya menunjukkan bahwa DPP-4 inhibitor merupakan strategi yang dominan dibandingkan dengan SU sebagai pengobatan tambahan untuk metformin. Oleh karena itu, DPP-4 inhibitor yang dikombinasikan dengan metformin merupakan terapi kombinasi yang efisien, aman dan dapat ditoleransi sebagai pilihan terapi lini kedua untuk DMT2.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Program Studi Magister Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada atas dukungannya.

DEKLARASI KONFLIK KEPENTINGAN

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahrén, B. (2008). Novel combination treatment of type 2 diabetes DPP-4 inhibition + metformin. *Vascular Health and Risk Management*, 4(2), 383–394.
- Baker, C., Retzik-Stahr, C., Singh, V., Plomondon, R., Anderson, V., & Rasouli, N. (2020). Should metformin remain the first-line therapy for treatment of type 2 diabetes? *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*, 12, 1–13. <https://doi.org/10.1177/20420188>
- Chien, C. L., Chen, Y. C., Malone, D. C., Peng, Y. L., & Ko, Y. (2020). Cost-utility analysis of second-line anti-diabetic therapy in patients with type 2 diabetes mellitus inadequately controlled on metformin. *Current Medical Research and Opinion*, 36(10), 1619–1626. <https://doi.org/10.1080/03007995.2020.1815686>
- Erhardt, W., Bergenheim, K., Duprat-Lomon, I., & McEwan, P. (2012). Cost effectiveness of saxagliptin and metformin versus sulfonylurea and metformin in the treatment of type 2 diabetes mellitus in Germany: A cardiff diabetes model analysis. *Clinical Drug Investigation*, 32(3), 189–202. <https://doi.org/10.2165/11597060-000000000-00000>
- Fadini, G. P., Bottigliengo, D., D'Angelo, F., Cavalot, F., Bossi, A. C., Zatti, G., Baldi, I.,

- Avogaro, A., Consoli, A., Formoso, G., Grossi, G., Pucci, A., Sesti, G., Andreozzi, F., Capobianco, G., Gatti, A., Bonadonna, R., Zavaroni, I., Cas, A. D., ... Vinci, C. (2018). Comparative Effectiveness of DPP-4 Inhibitors Versus Sulfonylurea for the Treatment of Type 2 Diabetes in Routine Clinical Practice: A Retrospective Multicenter Real-World Study. *Diabetes Therapy*, 9(4), 1477–1490. <https://doi.org/10.1007/s13300-018-0452-y>
- Gardete-Correia, L., Boavida, J. M., Raposo, J. F., Mesquita, A. C., Fona, C., Carvalho, R., & Massano-Cardoso, S. (2010). First diabetes prevalence study in Portugal: PREVADIAB study. *Diabetic Medicine*, 27(8), 879–881. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2010.03017.x>
- Gong, L., Goswami, S., Giacomini, K. M., Altman, R. B., & Klein, T. E. (2012). Metformin pathways. *Pharmacogenetics and Genomics*, 22(11), 820–827. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e3283559b22>
- Granström, O., Bergenheim, K., McEwan, P., Sennfält, K., & Henriksson, M. (2012). Cost-effectiveness of saxagliptin (Onglyza®) in type 2 diabetes in Sweden. *Primary Care Diabetes*, 6(2), 127–136. <https://doi.org/10.1016/j.pcd.2011.09.003>
- Gu, S., Deng, J., Shi, L., Mu, Y., & Dong, H. (2015). Cost-effectiveness of saxagliptin vs glimepiride as a second-line therapy added to metformin in Type 2 diabetes in China. *Journal of Medical Economics*, 18(10), 808–820. <https://doi.org/10.3111/13696998.2015.1049542>
- Haddaway, N. R., Page, M. J., Pritchard, C. C., & McGuinness, L. A. (2022). PRISMA2020: An R package and Shiny app for producing PRISMA 2020-compliant flow diagrams, with interactivity for optimised digital transparency and Open Synthesis. *Campbell Systematic Reviews*, 18(2), e1230. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cl2.1230>
- IDF. (2021). Five questions on the IDF Diabetes Atlas. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 102(2), 1–141. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2013.10.013>
- Isnaini, N., & Ratnasari, R. (2018). Faktor risiko mempengaruhi kejadian Diabetes mellitus tipe dua. *Jurnal Kebidanan Dan Keperawatan Aisyiyah*, 14(1), 59–68. <https://doi.org/10.31101/jkk.550>
- Kim, D. D., Silver, M. C., Kunst, N., Cohen, J. T., Ollendorf, D. A., & Neumann, P. J. (2020). Perspective and Costing in Cost-Effectiveness Analysis, 1974–2018. *PharmacoEconomics*, 38(10), 1135–1145. <https://doi.org/10.1007/s40273-020-00942-2>
- Kwon, C. S., Seoane-Vazquez, E., & Rodriguez-Monguio, R. (2018). Cost-effectiveness analysis of metformin+dipeptidyl peptidase-4 inhibitors compared to metformin+sulfonylureas for treatment of type 2 diabetes. *BMC Health Services Research*, 18(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12913-018-2860-0>
- Mursalin, & Soewondo, P. (2017). Analisis Estimasi Biaya Langsung Medis Penderita Rawat Jalan Diabetes Mellitus Tipe 2 di RSUD Dr. Abdul Aziz Singkawang Tahun 2013. *Jurnal Ekonomi Kesehatan Indonesia*, 1(2), 5–15. <https://doi.org/10.7454/eki.v1i2.1770>
- PERKENI. (2021). Pedoman Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa di Indonesia 2021. In *Perkeni* (2021st ed.). PB PERKENI. www.ginasthma.org.
- Rai, M., & Goyal, R. (2017). Pharmacoeconomics in Healthcare. In *Pharmaceutical Medicine and Translational Clinical Research*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802103-3.00034-1>
- Satibi. (2014). Manajemen Obat di Rumah Sakit. *Manajemen Administrasi Rumah Sakit*, 8(5), h: 6-7, 9-10.
- Schwinghammer, T. L., DiPiro, J. T., Ellingrod, V., & DiPiro, C. V. (2023). *DiPiro's Pharmacotherapy Handbook, 12th Edition* (12th ed.). McGraw-Hill Education. <https://books.google.co.id/books?id=yTttzwEACAAJ>
- Shaikh, S., Lee, E. J., Ahmad, K., Ahmad, S. S., Lim, J. H., & Choi, I. (2021). A comprehensive review and perspective on natural sources as dipeptidyl peptidase-4 inhibitors for

- management of diabetes. *Pharmaceuticals*, 14(6). <https://doi.org/10.3390/ph14060591>
- Viriato, D., Calado, F., Gruenberger, J. B., Ong, S. H., Carvalho, D., Silva-Nunes, J., Johal, S., & Viana, R. (2014). Cost-effectiveness of metformin plus vildagliptin compared with metformin plus sulphonylurea for the treatment of patients with type 2 diabetes mellitus: A Portuguese healthcare system perspective. *Journal of Medical Economics*, 17(7), 499–507. <https://doi.org/10.3111/13696998.2014.912986>