

jfi *Jurnal Farmasi Indonesia*



Pogostemon cablin



Vol. 13 No. 1, Januari 2021

e-ISSN: 2355-696x

p-ISSN: 1412-1107

Cytotoxicity Assay of *Détente Instantanée Côtrolée* Pre-dried *Pandanus conoideus* Lam. Extracts

Oeke Yunita^{1*}, Indrajati Kohar², Karim Allaf³, Aris Sri Anggara²

Artikel Penelitian

Abstract: Red fruit (*Pandanus conoideus* Lam.) contains antioxidant compounds in high levels, including beta-carotene and tocopherol, which neutralize free radical compounds which can cause cancer. Red fruit contains 46% water so red fruit can only last 5 days in this condition. To maintain its stability, it is necessary to dry it with various methods, for example *détente instantanée contrôlée* (DIC) is a revolutionary pressure drop drying procedure. Every procedure for drying raw material can affect its quality and activity, for example the anticancer activity of red fruit. In-vitro cytotoxicity of DIC pre-dried red fruit extracts on HeLa cells has never been tested, so it is important to study. Red fruit which was obtained from Klamono, Sorong, a highland in Papua was extracted with ethanol or hexane which previously dried by DIC pre-drying or conventional drying methods were weighed then dissolved in DMSO. Cytotoxicity assays was conducted using method the MTT with five levels of extract concentration. Result of this research showed that cytotoxicity assay of red fruit extracts on HeLa cells showed that red fruit extract can inhibit cell viability. The conventionally dried red fruit extract shows stronger cytotoxicity against HeLa cells than the DIC pre-dried extract. Red fruit extract cytotoxicity against HeLa cells: ethanolic extract of red fruit previously dried by conventional drying technique > ethanolic extract of red fruit previously dried by DIC pre-drying process > hexane extract of red fruit previously dried by conventional drying method > hexane extract of red fruit previously dried by DIC pre-drying process.

Keywords: cytotoxicity assay, *Détente Instantanée Côtrolée*, HeLa cells, *Pandanus conoideus*, pre-drying, red Fruit

Abstrak: Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) mengandung senyawa antioksidan yang tinggi, antara lain betakaroten dan tokoferol, yang dapat menetralkan senyawa radikal bebas penyebab kanker. Buah merah mengandung 46% air sehingga buah merah hanya bisa bertahan 5 hari. Untuk menjaga stabilitasnya, perlu dilakukan pengeringan dengan berbagai metode, misalnya *détente instantanée control* (DIC) yang merupakan prosedur pengeringan dengan penurunan tekanan yang revolusioner. Metode pengeringan bahan baku dapat mempengaruhi kualitas dan aktivitasnya, misalnya aktivitas antikanker buah merah. Uji sitotoksitas in-vitro ekstrak buah merah pra-kering DIC pada sel HeLa belum pernah diuji, sehingga penting untuk dipelajari. Buah merah yang diperoleh dari Klamono, Sorong, dataran tinggi di Papua diekstraksi dengan etanol atau heksana yang sebelumnya dikeringkan dengan metode DIC pra-pengeringan atau pengeringan konvensional ditimbang kemudian dilarutkan dalam DMSO. Uji sitotoksitas dilakukan dengan metode MTT dengan lima jenis konsentrasi ekstrak. Hasil penelitian menunjukkan uji sitotoksitas ekstrak buah merah terhadap sel HeLa menunjukkan bahwa ekstrak buah merah dapat menghambat viabilitas sel. Ekstrak buah merah yang dikeringkan secara konvensional menunjukkan sitotoksitas yang lebih kuat terhadap sel HeLa daripada ekstrak pra-kering DIC. Sitotoksik ekstrak buah merah terhadap sel HeLa: ekstrak etanol buah merah yang sebelumnya dikeringkan dengan teknik pengeringan konvensional > ekstrak etanol buah merah yang sebelumnya dikeringkan dengan proses DIC pre-drying > ekstrak heksana buah merah yang sebelumnya dikeringkan dengan metode pengeringan konvensional > ekstrak heksana buah merah yang sebelumnya dikeringkan dengan proses pra-pengeringan DIC.

Kata kunci: buah merah, *Détente Instantanée Côtrolée*, *Pandanus conoideus*, pra-pengeringan, sel HeLa, uji sitotoksitas

¹Laboratory of Pharmaceutical Biology, Faculty of Pharmacy, University of Surabaya.

²Laboratory of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of Surabaya.

³University of La Rochelle, France

Korespondensi:

Oeke Yunita
oeke@staff.ubaya.ac.id

Introduction

Red fruit (*Pandanus conoideus*) contains nutritional substances and active compounds in high levels, including beta-carotene and tocopherol. The content of tocopherol in the red fruit is high which has a biological activity as antioxidant (1). The compounds such as tocopherol and flavonoid that is found in plants can act as an antioxidant primer (2,3).

In the human body, antioxidant can neutralize and break free radical compounds which can cause cancer. Moreover, Red fruit also has an activity as immunomodulator. Immunomodulator is a compound that capable of influencing the positive reaction in the body against cancer. These compounds can stimulate various cells that play a role in the immune response, such as lymphocytes T, NK cells, and macrophages (4,5).

The previous study (6) showed that the red fruit extract had cytotoxicity against cancer cells (HeLa cells). The sample which was used was methanol extract of red fruit and partitioned with n-hexane and ethyl acetate. According to the result, methanol extract of red fruit which was partitioned with n-hexane and 50% ethyl acetate, and partitioned with n-hexane and 100 % ethyl acetate have anticancer activity. Both of the samples could inhibit HeLa cells viability as many as 100%.

Red fruit has moisture content approximately 46%. This condition makes the red fruit can not be preserved more than 5 days. In room temperature (25-30°C), the red fruit become easily damaged. However, in cold temperature (10°C), the red fruit can be preserved for 7-10 days. The damage can cause the degradation of the beneficial content which is needed as medicine/supplement. Because of this condition there are only two ways to prevent the damage, directly processes into the red fruit oil or preserved by drying method. Drying method of each crude drug must be considered because a different drying method can affect the quality of the crude drug (7).

The conventional drying method, such as drying under sunlight or exposing the simplicia in the air, is the preferred method in Indonesia. Since the method needs long exposure in an open area, the risk of contamination, both particulate

and microbiological contaminants, is higher than any other drying methods. Besides, the temperature of the conventional one is uncontrolled. Some compounds are volatile and some are easily degraded when directly exposed under sunlight, hence the active compound will be lower than expected.

For that reason, a new process of drying by instantaneous control pressure drop, called *détente instantanée contrôlée* (DIC) is developed as a pre-drying treatment. This treatment is also categorized as a High Temperature Short Time (HTST) process (8). Advantages of DIC processing are enhancing the desired outcome and the product has a better quality in terms of flavor, appearance, and other intrinsic factors. Besides, this process can significantly shorten production time and cut the production cost.

The in-vitro cytotoxicity of DIC pre-dried red fruit extracts have never been studied before. Thus, the cytotoxicity of DIC pre-dried red fruit extracts on HeLa cells is important to studied. The cancer cell that is used is HeLa cells. The HeLa cells are easy to be cultured and can be 90-100% confluence rapidly.

One of assay to study the cytotoxicity is MTT assay. MTT assay based on the conversion of the tetrazolium salt (yellow color) by the enzyme succinate dehydrogenase with the helped of NADH, turn into dark blue product called formazan. Formazan crystal is proportional for the number of living cells in various cell types (9). These methods are rapid, sensitive, accurate and a large number of samples can be tested automatically using a microplate reader.

In this study, the effect of pre-drying treatment by DIC on the cytotoxicity of the red fruit extract against HeLa cells will be explored using MTT assay.

Materials and Methods

Materials

Extract powder of red fruit

Red fruit sample is the red fruit (*Pandanus conoideus* Lam.) which was obtained from Klamono, Sorong, a highland in Papua on 5th October 2012. The powder of red fruit extract was

obtained from several treatments, modified from the previous research (10,11).

Chemicals

Roswell Park Memorial Institute Medium (RPMI) 1640, Fetal Bovine Serum (FBS) (gibco® by lifes technology), Sterile *aquabidestilata*, antibiotics (Penicillin-streptomycin) (Sigma), Alcohol 70%, Phosphate Buffered Saline (PBS) (gibco® by lifes technology) 0.25% Trypsin-EDTA (gibco® by lifes technology), DMSO (Jacob Lab), Ethanol p.a., HeLa cells (American Type Culture Collection® Catalog No. CCL-2TM), and MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) (Vybrant® by lifes technology).

Methods

Cell Culture Condition

Human cervical cancer cell lines, HeLa cells, were maintained in RPMI supplemented with 40 ml penicillin-Streptomycin, 40 ml fungizone, 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS) and 0,2% sodium bicarbonate. The suspension of HeLa cells was added to each well for cultured in a 96-wells plate, then incubated in the CO₂ incubator overnight until 90%-100% confluence (5x10⁴ cells /well).

Drying condition

There are four samples that are tested in this research. The first sample is red fruit of optimum parameter of DIC pre-drying (2.5 bar, 15 seconds, 4 cycles) followed by optimum extraction condition (60% ethanol, 30°C, 1 hour. The second sample is red fruit dried by conventional drying followed by optimum extraction condition (60% ethanol, 30°C, 1 hour) (11). The third sample is red fruit of optimum parameter of DIC pre-drying (1.5 bar, 15 seconds, 2 cycles) followed by optimum extraction condition (hexane, 45°C, 1.5 hours). The fourth sample is red fruit dried by conventional drying followed by optimum extraction condition (hexane, 45°C, 1.5 hours) (11).

Preparation and Conditions for Assay

Ethanolic extract of red fruit, which previously dried by DIC pre-drying and conventional drying methods, were weighed 180 mg, which was then dissolved in 2%DMSO. The

mixture was homogenized by vortex and centrifuged at 1600 rpm for 5 minutes. The concentration of extract was diluted with RPMI culture medium to yield five assay concentrations: 900 ppm, 2,700 ppm, 5,400 ppm, 7,200 ppm and 9,000 ppm (8, 12, 13, 14).

Hexane extracts of red fruit, which previously dried by DIC pre-drying and conventional drying methods, were weighed 500 mg, which was then dissolved in solvent mixture which contained 1.25% DMSO and 0.8% ethanol. The concentration of extract was diluted with RPMI culture medium to yield five assay concentrations: 10,000 ppm, 20,000 ppm, 40,000 ppm, 60,000 ppm and 80,000 ppm (12-14).

For this assay, a positive control, 0.003 % Doxorubicin, for indicating the toxicity observed in the direct contact assay was due to toxic components in the extract, was included in the assay. As a negative control material is a hydrophilic fumed silica that can aid improvements in drying efficiency, Cab-O-Sil, was used. For ethanolic extract, Cab-O-Sil was weighed 45 mg, which was then dissolved in 1% DMSO, while for hexane extract, it was weighed 50 mg, and then dissolved in 1% DMSO.

Cytotoxicity assay

HeLa cells were seeded in a 96 wells tissue culture plate at a concentration of 5x10⁴ cells /well. After overnight cell culture, tissue culture medium was discarded and the extraction solutions, positive control and negative control were added. The incubation was performed for 24-68 hours at 37°C. The cell viability was determined with MTT-assay.

The 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay was performed using the cell proliferation kit I MTT according to the manufacturer's protocol. After 24 h of incubation with test compounds, 100 µl of medium were removed from each well, then 25 µl of MTT solution was added into each well and plates incubated 4 hours at 28°C in a CO₂ incubator. After incubation process was complete and formazan crystals has been formed, the solution tests are discarded and 2% DMSO was added. Then the absorbance of the formazan was measured at 595 nm with 680 nm as reference

wavelength using an ELISA microplate reader (15).

For data evaluation, the viability percentage of HeLa cells are calculated and the IC_{50} value is determined using GraphPad Prism 6 software for windows, version 6.03, For data evaluation, background values from wells without cells were subtracted and average values for the triplicates calculated and expressed as % cytotoxicity referring to the untreated control containing only the solvent DMSO. Cytotoxicity was then calculated according to the following equation:

$$= \frac{\text{Cytotoxicity (\%)}}{\text{(experimental value - DMSO control)}} \times 100$$
$$= \frac{\text{(positive control - DMSO control)}}{\text{(positive control - DMSO control)}} \times 100$$

Result and Discussion

Samples Preparation

Red fruits which are used in this study were obtained from high land in Klamono, Papua. The red fruit powder from previous study was used for this study. The powder of 40/50 mesh after DIC pre-drying and after conventional drying from previous research are used for extraction. For the red fruit with optimum parameter of DIC pre-drying based on flavonoid and total phenol content as response (2.5 bar, 15 seconds, and 4 cycle), the optimum extraction condition is 60% ethanol (1:10), 30°C, for 1 hour (11), and for red fruit dried by conventional drying was extracted with the same condition as well. The powder of 40/50 mesh is used because if the particle size is reduced to increases the surface area of the red fruit particles for the extraction process later, thereby increasing the rate of extraction. Increasing the surface area of the particles is to increase the contact area of the particles with the specific solvent called *menstrum*.

The advantage of using the kinetic maceration is to achieve the equilibrium concentration faster in the help of the stirring motor and also this method is the best suitable for use in case of the thermolabile drugs (16). The Cab-O-Sil (1/10 powder) is added to thicken the extract, and to adsorb the remaining water in thick extract. The bulk (extract of red fruit and Cab-O-Sil) was dried in an oven at 50°C until constant weight. Drying is

aimed to prevent damage caused by microorganism, especially fungus. The chosen temperature was 50°C, it is intended to prevent damage of the heat sensitive components.

For the red fruit with optimum parameter of DIC pre-drying based on α -tocopherol content as response (1.5 bar, 15 seconds, and 2 cycle), the optimum extraction condition is n-hexane (1:25), 45°C, for 1.5 hours (11). And for red fruit dried by conventional drying was extracted with the same condition as well.

Harvesting And Culturing Hela Cells

The trypsin is added in HeLa cells after thawing. This is done to break the bonds between the cells of HeLa cells to become single cell.

The result of harvesting is a suspension form of single HeLa cells. The purpose of breaking the bonds of HeLa cells is to make it possible to be cultured in the 96-wells plate, and the purpose of overnight incubation process is to make the HeLa cells 90-100 % confluence.

HeLa cells must be 90-100 % confluence for the purpose of a strong bond between the cells and indicates that the cells which is used is in healthy condition and ready for the next test. If the growth of HeLa cells is not 90-100% confluence, the binding of cells is not strong and do not have enough nutrition and the HeLa cells will die. **Figure 1** showed the HeLa cells after 90% confluence, the bonds between cells are dense, the cells attached to the base plate and the cells shape is monolayer. It indicates that cells which is cultured is in healthy condition and ready for testing.

Treatment Of Red Fruit Extract on Hela Cells and MTT Assay

Cytotoxicity assay of the red fruit extracts on HeLa cells culture using MTT assay is started with the determination of concentrations of all extracts which can inhibit 50% HeLa cells proliferation in the population or IC_{50} . In this experiment, there are two negative controls which are used. The control solution for ethanolic extract is cab-o-sil diluted in DMSO 1%, and for hexane extract, a combination solvent of DMSO and ethanol (60:40) is used.

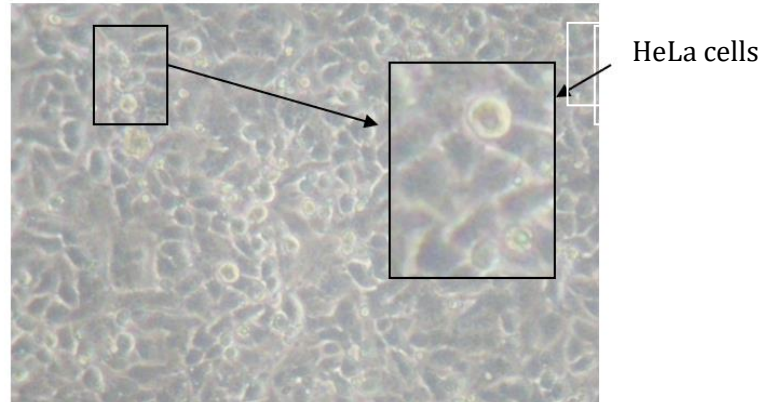


Figure 1. HeLa cells (ATCC@catalog No. CCL-2TM) (magnification 40x10)

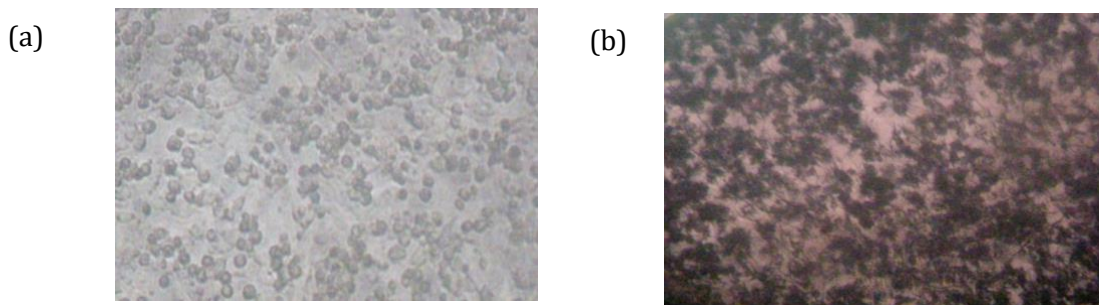


Figure 2. The HeLa cells after (a) the addition hexane extract of red fruit (by conventional drying) at the concentration of 4,275 ppm, (b) after the addition of the red fruit extract and MTT (3 - (4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) reagent and incubated for 4 hours (microscopic, magnification 40x10)

As the positive control, *doxorubicin* (30 µg/mL) is used. For the hexane extract, the mixture of DMSO 60 % and 40 % Ethanol is used because the solvent can dissolve hexane extract and proven to be safe for cells. For the ethanolic extract, DMSO 1% is used because DMSO can dissolve the extract and proven to be safe for cells (17).

HeLa cells culture with the addition of red fruit extract is incubated for 24 hours. Then, MTT is added to the cells culture and incubated for 4 hours. Next, DMSO is introduced. After DMSO was added, formazan crystals which were formed was dissolved, so the color of formazan crystal was changed and became purple. The higher the concentration of the red fruit extract, the lower formazan crystals is formed. It indicates that the extracts have cytotoxicity to inhibit the HeLa cells proliferation. The ability of the cells to reduce tetrazolium (MTT (3 - (4,5-dimethylthiazol-2-yl) - 2,5-diphenyltetrazolium bromide)) showed the integrity of mitochondria and its activities can be interpreted as a measurement of the number of cells, cells proliferation, cells viability, and cell

ability to survive (15). The HeLa cells after the addition of the red fruit extract and incubated for 24 hours was observed by microscope, and was shown in **Figure 2a**.

Figure 2a showed the characteristics of HeLa cells which are different from the normal HeLa cells (ATCC@Catalog No. CCL-2TM) culture, i.e. the cells shape is circle, the cells is not attached to the surface of a 96-wells plate base, and the bond between cells is estranged. It showed the decrease of cell viability after the addition of red fruit extract, the cells like changing into the final phase of the stationary phase and did not have the ability to adhere on the base in 96-well plate.

The HeLa cells after the addition of the red fruit extract and MTT (3 - (4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) reagent and incubated for 4 hour was observed by microscope as shown in **Figure 2b**. The shape of formazan crystals look like needles and fine fibers. The crystals will dissolve in the addition of DMSO, so the color change into purple, the absorbance of formazan can be detected by ELISA

microplate reader. The maximum wavelength of formazan crystal is 595 nm. The result of absorbance which was obtained was compared to the absorbance of the negative control. The result obtained showed the percentage of cell viability.

Figure 3 shows that percentage of inhibitory activity of HeLa cells increased with the increasing of the concentrations of ethanolic extracts and hexane extracts from red fruit (by DIC pre-drying and by conventional drying). At the higher concentrations, it is possible that the cytotoxicity will increase, decrease or remain stable.

The observation of the inhibitory cells proliferation with the ELISA microplate reader is resulting an optical density (OD) at λ 595 nm, then the data is converted to cells viability percentage and the value of the data is further analyzed in a

logarithmic curve with the software GraphPad Prism 6 for windows, version 6:03.

The inhibitory activity percentage of HeLa cells of ethanolic extract of red fruit, by DIC pre-drying and by conventional drying can be seen **Figure 3a** and **Figure 3b**. The result of the IC_{50} value of the ethanolic extract of red fruit (by DIC pre-drying) is 2,397.5 ppm, while IC_{50} value of the ethanolic extract of red fruit (by conventional drying) is 1,270 ppm. **Figure 3c** and **Figure 3d** show inhibitory activity percentage of HeLa cells of hexane extract of red fruit, by DIC pre-drying and by conventional drying. The result of the IC_{50} value of the hexane extract of red fruit (by DIC pre-drying) is 34,567.25 ppm, while IC_{50} value of the hexane extract of red fruit (by conventional drying) is 12,366.75 ppm.

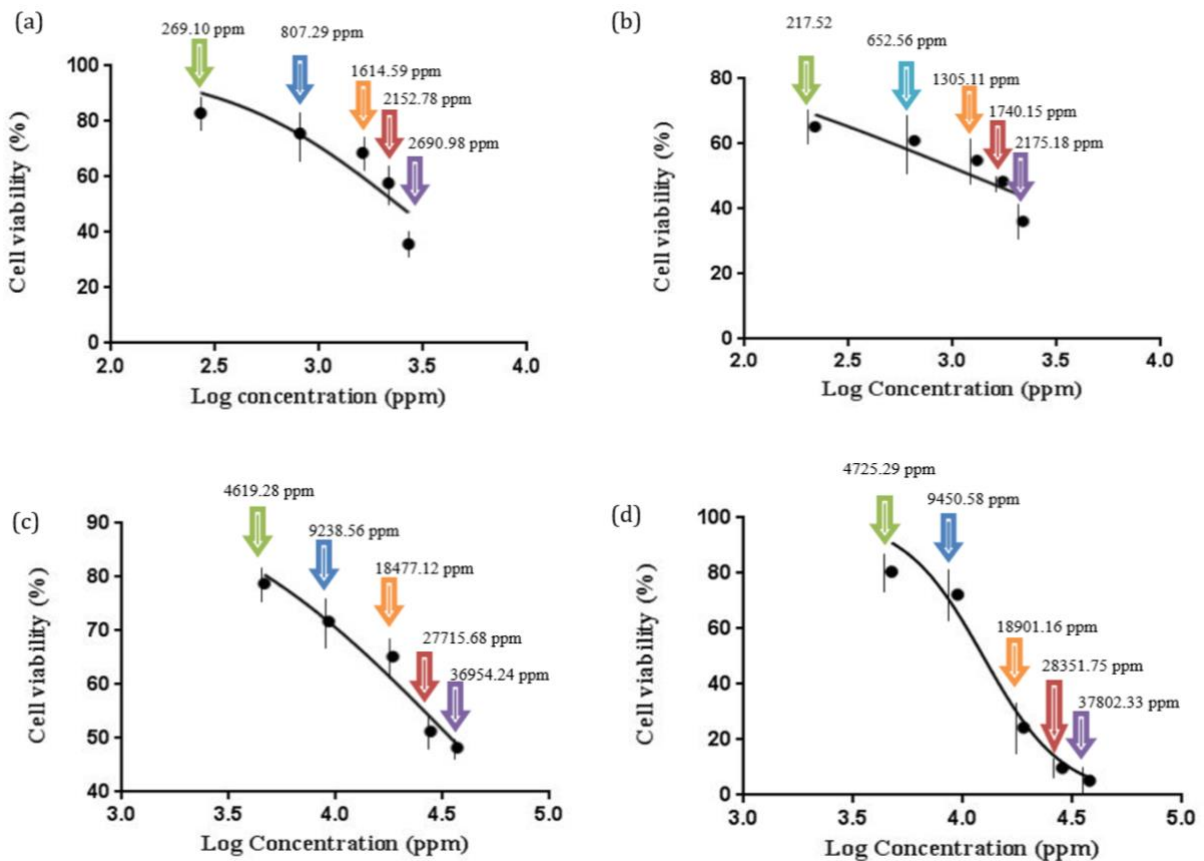


Figure 3. The percentage of viability of HeLa cells in various concentrations of (a) ethanolic extract of red fruit (by DIC pre-drying), (b) ethanolic extract of red fruit (by conventional drying), (c) hexane extract of red fruit (by DIC pre-drying), (d) hexane extract of red fruit (by conventional drying)

IC₅₀ value is a parameter which is used to determine cytotoxicity test. IC₅₀ value indicates that the concentration is capable to inhibit cell proliferation as many as 50% and it indicates the potential toxicity to the cells. The higher IC₅₀ value indicates that the compound is less toxic (18).

The cell viability percentage after the addition of positive control (*doxorubicin* 30 ppm) is 28.7449 %. It indicates that the concentration is lower than the concentration of the red fruit extract, so that *doxorubicin* is able to provide a higher cytotoxic effect against HeLa cells.

The difference of this study with another research (6) is the extract and treatment of the extract that are used. It used the methanol extract of red fruit and partitioned with hexane and ethyl acetate, but used the same cancer cell (HeLa cells) as a model for toxicity assay of red fruit.

In the previous research the cancer cells used as a model for toxicity assay is myeloma cells (2020), and comparing the difference of incubation time (20).

All of the extracts of red fruit can not be considered as a potent cytotoxicity against HeLa compared to *doxorubicin*, because all of the IC₅₀ value of extracts have lower cytotoxicity than *doxorubicin* against HeLa cells. This condition may be due to the high percentage of Cab-O-Sil in the bulk, which is causing the active substances that act as cytotoxicity in the extracts can not dissolved completely because the active substances in the extracts are bound to a high percentage of Cab-O-Sil. So, for the further study, the percentage of cab-o-sil in bulk is needed to be reduced.

Besides, this may be due to the kinetic maceration extraction method which can not extract all the active substances optimally. A further study is needed to search for another method of extraction, for example kinetic re-maceration.

The solvents which were used to pull the active substance out of the red fruit extract are 60% ethanol and hexane. Ethanol is a protic polar solvent because its dielectric constant of 30. While hexane is a non-polar solvent due to its dielectric constant of 2.0. It shows that the higher constant dielectric is, the higher the polarity of

solvent. Because this research only used ethanol as a protic polar solvent and hexane as a non-polar solvent, so a further study is needed to search for solvents which are capable to extract more of the active substances of red fruit. Probably an aprotic polar solvent can be used to dissolve not only polar, but also non polar active substances.

The example of active substances that contained in the ethanolic extract of red fruit extract is flavonoid. The examples of flavonoid which was having cytotoxicity on cancer cells are quercetin and rutin (21). The example of active substances which was contained in the hexane extract of red fruit extract are α -tocopherol, and β -carotene (1). The concentrations of active compounds in the extracts are not high, and it also influence its biological activities.

Conclusion

Based on the results, the red fruit extract, which previously dried by conventional drying method has better cytotoxicity against HeLa cells than red fruit extract which previously dried by DIC pre-drying method). The cytotoxicity of extract of red fruit against HeLa cells, are as follows: ethanolic extract of red fruit which previously dried by conventional drying method) > ethanolic extract of red fruit which previously dried by DIC pre-drying method > hexane extract of red fruit which previously dried by conventional drying method > hexane extract of red fruit which previously dried by DIC pre-drying method.

Some suggestions are offered for further research i.e. using other solvents such as aprotic polar solvent to get the optimal active substances in extraction process, optimizing the extraction process to get optimal cytotoxic substances in the extract, and reducing the percentage of the cab-o-sil in the bulk to concentrate the extracts.

Acknowledgment

All the team members would like to express their gratitude to Research and Community Services Centre for the financial support. Highly appreciation also to Prof. Karim Allaf from Abcar-DIC, France, for the support of the DIC machine. Also Head of Chemical Engineering Department of The University of Surabaya, for the permission of

using the DIC machine, and the technician and laboratory staffs of the France Indonesia Agro-Industrial Laboratory, Faculty of Engineering, Dept. of Chemical Engineering; Research Laboratory and Quantitative Analysis Laboratory of the Faculty of Pharmacy, University of Surabaya.

Referensi

- Hidalgo GI, Almajano MP. 2017. Red fruits: extraction of antioxidants, phenolic content, and radical scavenging determination: A review. *Antioxidants*; 6(7): 1-27.
- Grilo EC, Costa PN, Gurgel CSS, Beserra AFL, Almeida FNS, Dimenstein R. 2014. Alpha-tocopherol and gamma-tocopherol concentration in vegetable oils. *Food Science and Technology. Campinas*; 34(2): 379-385.
- Balhim JL, Vasconcelos de Alcantara BG, Domingos OS, Soares MG, Caldas IS, Novaes RD, Oliveira TB, Lago JHG, Chagas-Paula DA. 2017. The correlation between chemical structures and antioxidant, prooxidant, and antitrypanosomatid properties of flavonoids. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*; 2017, 1-13.
- Jantan I, Ahmad W, Bukhari SNA. 2015. Plant-derived immunomodulators: an insight on their preclinical evaluation and clinical trials. *Frontiers in Plant Science*; 6, 1-18.
- Tambaip T, Br Karo M, Hatta M, Dwiyantri R, Natzir R, Massi MN, Islam AA, Djawad K. 2018. Immunomodulatory effect of orally red fruit (*Pandanus conoideus*) extract on the expression of CC chemokine receptor 5 mRNA in HIV patients with antiretroviral therapy. *Research Journal of Immunology*; 11(1): 15-21.
- Ratnawati H, Widowati H, Jasaputra DK. 2008. Cytotoxic activity of Buah Merah fractions (*Pandanus conoideus* Lam.) towards cervical cancer cell in HeLa Cells Culture. *Proceeding of The International Seminar on Chemistry*; 317-320, 319.
- Liang WH, Chang TW, Charng YC. 2018. Effects of drying methods on contents of bioactive compounds and antioxidant activities of *Angelica dahurica*. *Food Sci Biotechnol*; 27(4): 1085-1092.
- Setyoprato P, Allaf K, Fatmawati A. 2009. Texturing by Instant Controlled Pressure Drop DIC in the Production of Cassava Flour: Impact on Dehydration Kinetics, Product Physical Properties and Microbial Decontamination. *Proceedings of the World Congress on Engineering and Computer Science*; Vol I, San Fransisco, USA.
- Santoso A, Larasati, Ningrum RA, Wisnuwardhani PH, Septisetyani, EP, Herawati N, Kusumawati A. 2013. Teknik Dasar Kultur Sel Mamalia dan Aplikasinya Dalam Bidang Farmasi, Laboratorium Protein Terapetik dan Vaksin. Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI. Cibinong, 29-31.
- Kohar I, et al. 2015. Optimization of the Drying Method of Red Fruit (*Pandanus conoideus* Lam) by Détente Instantanée Controllee (DIC), *Proceedings International Conference on Natural Mathematical and Environmental Sciences for Sustainable Development*. Banjarbaru, Indonesia, October 2015.
- Kohar I, et al. 2016. Optimization of the Extraction Method of Red Fruit (*Pandanus conoideus* Lam) powder pre dried by Détente Instantanée Controllee (DIC). data unpublished.
- Prasetia TA. 2013. Optimization of extraction conditions of Détente Instantanée Contrôlée (DIC) pre-treated red fruit (*Pandanus conoideus* lam.) Powder based on total phenol content (Final Project). Surabaya: Faculty of Pharmacy, University of Surabaya.
- Setiadi AC. 2013. Optimization of extraction conditions of Détente Instantanée Côtrolée (DIC) pre-treated *Pandanus conoideus* Lam.(red fruit) powder based on flavonoid content (Final Project). Surabaya: Faculty of Pharmacy, University of Surabaya.
- Wahyuni D. 2013. Optimization of extraction conditions of Détente Instantanée Contrôlée (DIC) pre-treated red fruit (*Pandanus conoideus* lam.) Powder based on α -tocopherol content (Final Project). Surabaya:

- Faculty of Pharmacy, University of Surabaya.
15. Yunita O, Yuwono M, Rantam FA. 2013. In vitro cytotoxicity assay of *Sauropus androgynus* on human mesenchymal stem cells. *Toxicological and Environmental Chemistry*; 95 (4): 679-686.
 16. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Gur. 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*; 32-33.
 17. Singh S. 2010. DMSO Usage in Cell Culture.
 18. Djajanegara I, Wahyudi P. 2009. Pemakaian sel HeLa dalam uji sitotoksitas fraksi kloroform dan etanol ekstrak daun *Annona squamosa*. *Jurnal ilmu kefarmasian Indonesia, Universitas Pancasila*; 2(26). 59-64.
 19. Sha Z, Goldberg A. 2020. Multiple Myeloma Cells are exceptionally sensitive to heat shock, which overwhelms their proteostasis network and induces apoptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*; 117(35): 21588-21597.
 20. Anggara T. 2006. Uji sitotoksitas ekstrak buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) terhadap kultur sel hela (*Thesis*). Bandung: Universitas Kristen Marantha.
 21. Fitriya Anwar L. 2009. Uji Aktivitas secara In Vitro dengan Sel Murine P-388 Senyawa Flavonoid dari Fraksi Etil Asetat Akar Tumbuhan Tunjuk Langit (*Helmynthostachis zeylanica* (Linn) Hook, Universitas Sriwijaya : Jurusan Kimia FMIPA, 2-4.

Kadar Flavonoid Total dan Uji In Vitro Aktivitas Tabir Surya Ekstrak Kulit Batang Tuntun Angin (*Elaeocarpus floribundus* Blume)

Rahayu Utami^{1*}, Ikhsan Mauludi Alpasiri¹, Haiyul Fadhli¹, Ihsan Ikhtiarudin¹,
Enda Mora¹ dan Mustika Furi¹

Artikel Penelitian

Abstract: The stem bark of tuntun angin (*Elaeocarpus floribundus* Blume) has been traditionally using to treat various diseases, including fever, gingivitis and rheumatism. Our previous study has shown that stem bark extract of this plant contains significant levels of total phenolics. The aim of this recent study was to determine total flavonoid content and providing an initial determination of sunscreen activity of *n*-hexane, ethyl acetate and methanol extracts of its stem bark. Extraction was carried out by maceration method using three different solvents successively. The quantitative evaluation of total flavonoid content was expressed as mg Quercetin Equivalent (QE)/gram extract at a wavelength of 430 nm using a microplate reader. Evaluation of sunscreen activity was performed by determining value of Sun Protection Factor (SPF) using a UV-Vis spectrophotometer. The results showed that the *n*-hexane, ethyl acetate and methanol extracts contained total flavonoid levels of 9; 15.81 and 15.56 mgQE/g extract, respectively. Ethyl acetate extract showed the most potential sunscreen activity (ultraprotection category) among other extracts with SPF values of 44.626; 40,687; 33.710 and 23.607 for the tested concentrations of 1000; 800; 600 and 400 µg/mL, respectively. However, this activity is not as good as benzophenone-3 as positive control at a concentration of 50 µg/mL with an SPF value of 22.646 demonstrated an ultraprotection category of sunscreen activity.

Keywords: benzophenone-3, *Elaeocarpus floribundus*, quercetin, sunscreen activity, total flavonoid content

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

Abstrak: Kulit batang tuntun angin (*Elaeocarpus floribundus* Blume) secara tradisional digunakan untuk mengobati berbagai penyakit, diantaranya demam, radang gusi dan rematik. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang tumbuhan ini mengandung kadar fenolik total yang signifikan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar flavonoid total dan memberikan gambaran awal potensi aktivitas tabir surya ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol kulit batang tuntun angin. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat. Penentuan kuantitatif kadar flavonoid total dinyatakan sebagai mg Quercetin Equivalent (QE)/gram ekstrak pada panjang gelombang 430 nm menggunakan alat *microplate reader*. Pengujian aktivitas tabir surya secara *in vitro* dilakukan melalui penentuan nilai *Sun Protection Factor* (SPF) menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol mengandung kadar flavonoid total berturut-turut sebesar 9; 15,81 dan 15,56 mgQE/g ekstrak. Ekstrak etilasetat menunjukkan aktivitas tabir surya yang paling baik (proteksi ultra) dibandingkan ekstrak lainnya dengan nilai SPF 44,626; 40,687; 33,710 dan 23,607 untuk masing-masing konsentrasi uji 1000; 800; 600 dan 400 µg/mL. Namun aktivitas ini belum sebaik aktivitas senyawa pembanding benzophenone-3 pada konsentrasi 50 µg/mL dengan nilai SPF 22,646 dengan kategori proteksi ultra.

Korespondensi:

Rahayu Utami
rahayuutami@stifar-riau.ac.id

Kata kunci: benzophenone-3, *Elaeocarpus floribundus*, kadar flavonoid total, quercetin, tabir surya

Pendahuluan

Elaeocarpus floribundus Blume adalah spesies tumbuhan yang termasuk dalam famili Elaeocarpaceae yang biasa tumbuh di bukit dataran rendah dan pegunungan di India, Burma, Thailand, Vietnam, Malaysia dan Indonesia. Secara tradisional, tumbuhan ini telah banyak digunakan sebagai pengobatan (1). Di Sumatera, air rebusan kulit batangnya digunakan sebagai obat kumur untuk mengobati gusi yang meradang, daunnya digunakan untuk pengobatan rematik dan buahnya digunakan untuk pengobatan diare serta disentri (2). Ekstrak buahnya baik untuk kulit dan digunakan sebagai *antiaging* (3).

Penelitian terdahulu yang telah dilaporkan diketahui bahwa daun dan kulit batang *Elaeocarpus floribundus* Blume, menunjukkan adanya potensi sebagai antioksidan. Pada ekstrak metanol kulit batangnya memiliki nilai IC_{50} sebesar $7,36 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ sedangkan ekstrak metanol dari daun memiliki nilai IC_{50} sebesar $58,23 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$. Pemeriksaan kadar total fenolik pada ekstrak metanol daunnya menunjukkan nilai sebesar $503,08 \pm 16,71 \text{ mg GAE/g DW}$ sedangkan kulit batang sebesar $161,5 \pm 24,81 \text{ mg GAE/g DW}$ (4).

Fenolik dan flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang diketahui aktif sebagai antioksidan. Flavonoid merupakan polifenol alami yang banyak ditemukan dalam daun, batang dan bunga. Antioksidan khususnya flavonoid memiliki molekul yang dapat dengan mudah memberikan elektronnya ke molekul radikal bebas sehingga dapat menstabilkan molekul radikal bebas dan mencegah proses oksidasi yang tidak diinginkan dalam sel sehingga dapat mencegah berbagai penyakit yang ditimbulkan oleh radiasi sinar UV (5). Senyawa flavonoid memiliki gugus benzena aromatis terkonjugasi yang mampu menyerap sinar UV A atau UV B yang dapat menyebabkan efek buruk terhadap kulit (6).

Berdasarkan data tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang kadar flavonoid total dan aktivitas tabir surya dari ekstrak kulit batang *Elaeocarpus floribundus* Blume. Kadar flavonoid total dianalisa menggunakan reagen AlCl_3 dan kemudian diukur

menggunakan *microplate reader*. Aktivitas tabir surya secara *in vitro* dievaluasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan dan Metode

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, blender, botol gelap, cawan porselen, kertas saring, aluminium foil, plastik wrap, timbangan analitik (KERN®), ultrasonikasi (KUDOS®), seperangkat alat destilasi (DURAN®), mikropipet (CAPP®), *rotary evaporator* (Buchi®), desikator (NORMAX®), waterbath (Buchi®), pipet mikro multichanel (WATSON®), *96 wells microplate* (IWAKI®), *96 wells microplate reader* (Epoch BioTek®), Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu®).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang tuntun angin, pelarut n-heksana, etil asetat, metanol, etanol absolut, natrium asetat 1M, AlCl_3 10% dan benzophenone-3 (Sigma Aldrich®).

Metode

Pengambilan dan identifikasi sampel

Sampel diambil dari Desa Kotaringin, Kecamatan Mempura, Kabupaten Siak Sri Indrapura, Provinsi Riau, Indonesia. Bagian yang digunakan adalah kulit batang tumbuhannya. Identifikasi tumbuhan dilakukan di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Jurusan Biologi Universitas Riau, Pekanbaru.

Persiapan Simplisia

Kulit batang tuntun angin yang masih segar sebanyak 5 kg dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel (sortasi basah), kemudian kulit dikeringkan dengan cara dikeringanginkan, lalu dilakukan sortasi kering. Simplisia kering selanjutnya diserbukkan lalu ditimbang dan didapatkan bobot akhir simplisia seberat 3 kg, kemudian disimpan dalam wadah yang kering dan bersih.

Ekstraksi Simplisia

Ekstrak kulit batang tuntun angin dibuat dengan menggunakan metode maserasi bertingkat. Sebanyak 3 kg kulit batang tuntun

angin dimaserasi menggunakan pelarut n-heksana selama 3 hari dengan 3 kali pengulangan dalam wadah yang tertutup baik dan terlindung dari cahaya sambil diaduk satu kali sehari. Pada hari ke 3 dilakukan penyaringan, untuk memisahkan maserat dengan ampas sampel. Ampas direndam kembali dengan etil asetat dan dibiarkan selama 3 hari dengan 3 kali pengulangan. Kemudian maserasi terakhir dengan menggunakan metanol dan dilakukan perlakuan yang sama pada sebelumnya. Masing-masing maserat dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan masing-masing ekstrak kental n-heksana, etil asetat dan metanol.

Penentuan Kadar Flavonoid Total

Penentuan Kurva Kalibrasi

Kuersetin dengan konsentrasi 100 µg/mL dipipet sebanyak 50 µL, 40 µL, 30 µL, 20 µL, dan 10 µL masing-masing ke dalam sumur A, B, C, D dan E. Sumur B sampai E, masing-masing ditambahkan etanol sebanyak 10, 20, 30, dan 40 µL sehingga diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 100 µg/mL (baris A), 80 µg/mL (baris B), 60 µg/mL (baris C), 40 µg/mL (baris D), 20 µg/mL (baris E). Kemudian pada masing-masing konsentrasi ditambahkan 10 µL AlCl₃ 10%, 135 µL etanol dan 10 µL natrium asetat 1 M. Kemudian didiamkan campuran tersebut selama 40 menit pada suhu ruang dan terhindar dari cahaya matahari. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 430 nm. Pengukuran absorbansi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan (7).

Pengujian Sampel Uji

Masing-masing ekstrak kental n-heksana, etil asetat dan metanol konsentrasi 1000 µg/mL dipipet 100 µL ke dalam well pada baris A. Kemudian sebanyak 50 µL etanol ditambahkan ke baris B dan C, lalu dipipet sebanyak 50 µL dari baris A ke baris B, baris B dipipet 50 µL ditambahkan ke baris C, baris C dipipet sebanyak 50 µL dan dibuang. Sehingga diperoleh konsentrasi uji pada baris A (1000 µg/mL), B (500 µg/mL) dan C (250 µg/mL). Kemudian pada masing-masing konsentrasi ditambahkan 10 µL AlCl₃ 10%, 135 µL etanol dan 10 µL natrium asetat

1 M. Kemudian didiamkan campuran tersebut selama 40 menit pada suhu ruang dan terhindar dari cahaya matahari. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 430 nm. Pengukuran absorbansi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Lakukan pengukuran blanko dengan cara yang sama, tanpa penambahan larutan uji. Buat kurva kalibrasi dan hitung kadar masing-masing sampel (7). Absorbansi sampel yang masuk ke dalam *range* absorbansi pada kurva kalibrasi kemudian dipilih untuk analisis data.

Uji Aktivitas Tabir Surya

Pembuatan Larutan Uji Aktivitas Tabir Surya

Ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol kulit batang tuntun angin masing-masing ditimbang sebanyak 100 mg dilarutkan dengan etanol sampai tanda batas dalam labu ukur 100 mL sehingga didapatkan larutan ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol dengan konsentrasi 1000 ppm dipipet 0,5; 1; 2; 4; 6; 8 dan 10 mL ditambahkan etanol sampai tanda batas dalam labu ukur 10 mL untuk mendapatkan konsentrasi larutan 50; 100; 200; 400; 600; 800 dan 1000 ppm.

Benzophenone-3 ditimbang sebanyak 10 mg dilarutkan dengan etanol sampai tanda batas dalam labu ukur 10 mL sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan dengan konsentrasi 1000 ppm dipipet 0,5 mL ditambahkan etanol sampai tanda batas dalam labu ukur 10 mL untuk mendapatkan konsentrasi larutan 50 ppm. Kemudian dilakukan penentuan nilai SPFnya.

Penentuan Nilai Sun Protection Factor (SPF)

Nilai SPF ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan mengukur absorbansi dari variasi konsentrasi ekstrak yang diperoleh pada panjang gelombang 290-320 nm setiap interval 5 nm dengan etanol sebagai blanko. Nilai absorbansi (A) yang diperoleh dikalikan dengan EE x 1, jumlah perkalian absorbansi dengan EE x 1 dikalikan dengan faktor koreksi yang nilainya 10. Sehingga diperoleh nilai SPF dari sampel uji.

Tabel 1. Nilai EE x I untuk perhitungan nilai SPF

Panjang gelombang (λ nm)	EE x I
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
Total	1

Analisis Data

Analisis Kandungan Kadar Flavonoid Total

Kandungan total flavonoid dihitung berdasarkan persamaan garis yang diperoleh dari kurva standar. Sehingga diperoleh persamaan regresi linier, yaitu:

$$y = ax + b$$

Keterangan :

- y = Absorbansi
- a = Slope
- x = Konsentrasi
- b = Intersep

Absorban sampel dimasukkan ke dalam persamaan kurva standar sebagai nilai y, dimana nilai x yang diperoleh merupakan konsentrasi dalam $\mu\text{g/mL}$. Lalu dihitung kandungan flavonoid total dengan menggunakan rumus:

$$\text{KTF} = \frac{V(\text{mL}) \times X(\text{mg/mL}) \times \text{FP}(\text{mg/mL})}{\text{Bobot sampel (g)}}$$

Keterangan:

- KTF = Kadar flavonoid total (mg QE/g ekstrak)
- X = konsentrasi flavonoid pada sampel (mg/mL)
- FP = Faktor Pengenceran (mL)
- V = Volume (mL)

Perhitungan Nilai Sun Protection Factor (SPF)

Nilai SPF ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol daun tuntun angin pada masing-masing konsentrasi uji dihitung menggunakan persamaan berikut (8).

$$\text{SPF} = \text{CF} \times \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \times I(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$$

Keterangan :

- CF : *Correction Factor* (Faktor Koreksi)
- EE : *Erythremal Effect* (Spektrum efek eritema)
- I : *Intensity* (Spektrum intensitas matahari)
- Abs : Absorbansi Ekstrak

Hasil pengukuran nilai absorbansi ekstrak pada masing-masing panjang gelombang dikalikan dengan nilai konstanta EE x I (**Tabel 1**). Setelah itu, hasil perkalian absorbansi ekstrak dengan nilai EE x I dijumlahkan. Hasil penjumlahan kemudian dikalikan dengan faktor koreksi yang nilainya 10 untuk mendapatkan nilai SPF ekstrak pada masing-masing konsentrasi uji. Data yang telah diolah disajikan secara deskriptif berdasarkan klasifikasi aktivitas tabir surya dari referensi untuk mengetahui perbedaan nilai SPF yang didapat masing masing konsentrasi uji.

Hasil dan Diskusi

Ekstraksi 3 kg simplisia yang dilakukan menggunakan metoda maserasi bertingkat menghasilkan ekstrak kental n-heksana sebanyak 3,432 g (0,114 %), ekstrak etil asetat 18,615 g (0,620 %) dan ekstrak metanol sebanyak 218,255 g (7,275 %). Hal ini menunjukkan bahwa kulit batang tuntun angin mengandung komponen senyawa polar yang lebih dominan (9).

Penentuan kadar flavonoid total melalui metoda kolorimetri menggunakan AlCl_3 sebagai reagen. Pengukuran kadar flavonoid total didasarkan pada pembentukan kompleks antara

$AlCl_3$ dengan senyawa flavonoid pada gugus orto hidroksi keton. Penggunaan natrium asetat pada pengujian ini yaitu untuk menciptakan suasana basa, karena reaksi pembentukan kompleks terjadi pada suasana basa. Baku pembanding yang digunakan untuk pengujian flavonoid ini adalah kuersetin. Kuersetin digunakan sebagai pembanding karena kuersetin merupakan kelompok senyawa flavonol terbesar (10).

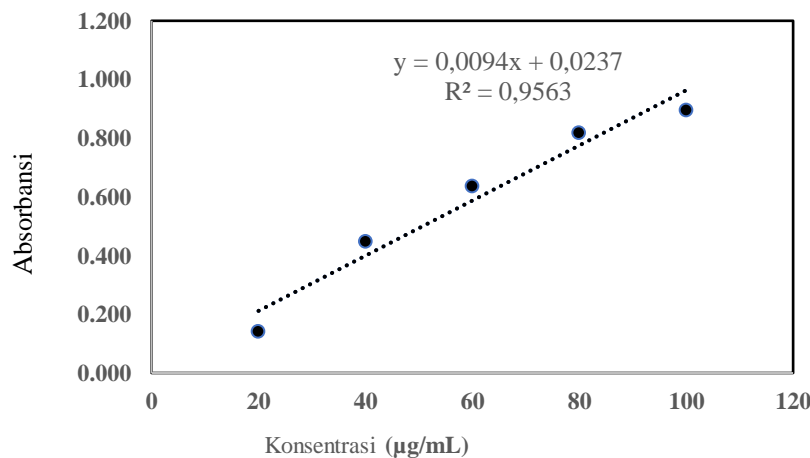
Larutan standar kuersetin pada konsentrasi 100; 80; 60; 40 dan 20 $\mu\text{g/mL}$ diukur serapannya dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 415 nm. Persamaan regresi $y = 0,0094x + 0,0237$ dengan nilai r^2 yaitu 0,9563 diperoleh dengan memplotkan konsentrasi kuersetin (sumbu x) terhadap absorbansinya (sumbu y) seperti yang terlihat pada **Gambar 1**.

Berdasarkan persamaan tersebut, diperoleh kadar flavonoid total dari ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol sebesar 9; 15,81 dan 15,56 mgQE/g ekstrak. Kandungan flavonoid total dalam ekstrak dinyatakan dalam QE (Quercetin Equivalent) yaitu jumlah kesetaraan mg kuersetin dalam 1 g sampel. Semakin banyak kadar total flavonoid yang terkandung dalam suatu ekstrak maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya. Penelitian telah membuktikan adanya korelasi antara antioksidan dengan aktivitas tabir surya, semakin tinggi aktivitas antioksidan maka semakin tinggi aktivitas tabir surya (11).

Penentuan nilai SPF ekstrak kulit batang tuntun angin dilakukan secara *in vitro* menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 290-320 nm. Berdasarkan perhitungan nilai SPF diketahui bahwa ekstrak etilasetat etil asetat kulit batang tuntun angin dengan konsentrasi 1000; 800; 600; 400; 200; 100; 50 $\mu\text{g/mL}$ dengan sebelumnya didapatkan hasil berturut-turut sebesar 44,626; 40,687; 33,710; 23,607; 11; 933; 4,838; 3,208 (**Tabel 2**). Dari data tersebut dapat kita ketahui bahwa pada konsentrasi 1000; 800; 600; 400 $\mu\text{g/mL}$ dikategorikan sebagai proteksi ultra, pada konsentrasi 200 $\mu\text{g/mL}$ dengan kategori proteksi maksimum, pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ dengan kategori proteksi sedang, sedangkan pada konsentrasi 50 $\mu\text{g/mL}$ dapat dikategorikan sebagai proteksi minimal (12).

Ekstrak kulit batang tuntun angin pada konsentrasi uji yang sama diperoleh nilai SPF secara berturut-turut sebesar 42,292; 41,20; 33,709; 22,174; 10,981; 5,399; 3,208 (**Tabel 2**). Dari data tersebut dapat diketahui bahwa pada konsentrasi 1000; 800; 600 dan 400 $\mu\text{g/mL}$ termasuk kategori proteksi ultra, pada konsentrasi 200 $\mu\text{g/mL}$ termasuk kategori proteksi maksimum, pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ termasuk kategori proteksi sedang, sedangkan pada konsentrasi 50 $\mu\text{g/mL}$ dengan kategori proteksi minimal (12).

Gambar 1. Kurva Kalibrasi Kuersetin



Tabel 2. Nilai SPF dari ekstrak n-heksana, etilasetat dan metanol kulit batang tuntun angin (*Elaeocarpus floribundus*)

Konsentrasi (µg/mL)	Ekstrak n-heksana		Ekstrak etilasetat		Ekstrak metanol	
	Nilai SPF	Keterangan	Nilai SPF	Keterangan	Nilai SPF	Keterangan
1000	9,716	Proteksi Maksimum	44,626	Proteksi Ultra	42,292	Proteksi Ultra
800	7,987	Proteksi Ekstra	40,687	Proteksi Ultra	41,200	Proteksi Ultra
600	5,874	Proteksi Sedang	33,710	Proteksi Ultra	33,709	Proteksi Ultra
400	4,174	Proteksi Sedang	23,607	Proteksi Ultra	22,174	Proteksi Ultra
200	2,697	Proteksi Minimal	11,933	Proteksi Maksimum	10,981	Proteksi Maksimum
100	1,107	(-)	4,838	Proteksi Sedang	5,399	Proteksi Sedang
50	0,569	(-)	3,208	Proteksi Minimal	3,208	Proteksi Minimal

Kemudian pada ekstrak n-heksana kulit batang tuntun angin dengan konsentrasi yang sama didapatkan hasil berturut-turut sebesar 9,716; 7,987; 5,874; 4,147; 2,697; 1,107; 0,569 (**Tabel 2**). Dari data ini dapat diketahui pada konsentrasi 1000 dapat dikategorikan sebagai proteksi maksimum, konsentrasi 800 dengan kategori proteksi ekstra, konsentrasi 600 dan 400 dengan kategori proteksi sedang, konsentrasi 200 dengan kategori proteksi minimal, sedangkan pada konsentrasi 100 dan 50 tidak termasuk dalam kategori rentang nilai SPF yang ada pada literatur (12).

Nilai SPF yang diperoleh pada konsentrasi 1000 µg/mL menggambarkan, jika seseorang menggunakan sediaan tabir surya dengan nilai SPF 9,71 berarti daya tahan alami kulit seseorang dilipatgandakan sebanyak 9,71 kali dari daya tahan awalnya, sehingga aman dibawah sinar matahari tanpa mengalami kemerahan (eritema) dan penggelapan kulit (pigmentasi). Semakin tinggi nilai SPF yang diinginkan, dibutuhkan jumlah zat aktif tabir surya yang semakin tinggi juga (12).

Hasil penentuan nilai SPF senyawa *benzophenone-3* sebagai tabir surya pembanding pada konsentrasi 50 µg/mL dan diperoleh nilai sebesar 22,646 dan memiliki kategori sebagai proteksi ultra. *Benzophenone-3* digunakan sebagai pembanding karena merupakan salah

satu tabir surya organik yang banyak digunakan dalam produk kosmetik (13).

Kesimpulan

Kadar flavonoid total ekstrak n-heksana, etilasetat dan metanol kulit batang tuntun angin diketahui sebesar 9; 15,81 dan 15,56 mgQE/g ekstrak. Ekstrak etilasetat dengan kadar flavonoid total tertinggi menunjukkan aktivitas tabir surya paling baik dibandingkan ekstrak lainnya dengan nilai SPF 44,626 (proteksi ultra) pada konsentrasi uji tertinggi 1000 µg/mL.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau untuk dana Hibah Penelitian Terapan tahun 2021 yang telah membiayai penelitian ini. Terima kasih kepada Prof. Dr. Fitmawati, M.Si untuk identifikasi sampel tumbuhan.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak adanya konflik kepentingan dalam penelitian ini.

Referensi

1. Wiart C. Medicinal Plants of Asia and the Pacific. 1st edition. CRC Press; 2006.
2. Zaman S. Exploring the Antibacterial and Antioxidant Activities of *Elaeocarpus floribundus* Leaves. Indo American Journal

- Pharmaceutical Sciences. 2016;3(2):92-7.
3. Roslim DI, Khumairoh S, Herman H. Confirmation of Tuntun Angin (*Elaeocarpus floribundus*) Taxonomic Status Using matK and ITS Sequences. Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education. 2016;8(3):392-9.
 4. Utami R, Khalid N, Sukari MA, Rahmani M, Abdul AB, Dachriyanus. Phenolic contents, antioxidant and cytotoxic activities of *Elaeocarpus floribundus* Blume. Pak J Pharm Sci. 2013;26(2):245-50
 5. Ebrahimzadeh MA, Enayatifard R, Khalili M, Ghaffarloo M, Saeedi M, Charati JY. Correlation between sun protection factor and antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some medicinal plants. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2014;13(3).
 6. Bonina F, Lanza M, Montenegro L, Puglis C, Tomaino A, Trombetta D, Castelli F, Saija A. Flavonoids as potential protective agents against photo-oxidative skin damage. International Journal of Pharmaceutics. 1996;145(1-2):87-94.
 7. Anonymous. Farmakope Herbal Indonesia. II. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017.
 8. Dutra EA, Oliveira DA, Kedor-Hackmann ER, Santoro MI. Determination of sun protection factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. 2004;40(3):381-5.
 9. Sarker SD, Latif Z, Gray AI. Natural Product Isolation. Totowa, New Jersey : Humana Press. 2006.
 10. Liu H, Song Y, Zhang X. Determination of total flavonoids in leek by AlCl₃ colorimetric assay. Chemical Engineering Transactions. 2017;59:775-80.
 11. Pontoan J. Uji Aktivitas Antioksidan Dan Tabir Surya dari Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana* M.). Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal. 2016;1(1).
 12. Sami FJ, Nur S, Martani MM. Uji Aktivitas Tabir Surya pada Beberapa Spesies dari Family Zingiberaceae dengan Metode Spektrofotometri. Jurnal Ilmiah As-Syifaa. 2015;7(2):164-73.
 13. Draelos ZD, Thaman LA. Cosmetic Formulation of Skin Care Products. Vol. 30. CRC Press. 2013.

Formulation of Silver Nanoparticles Liquid Hand Wash with Polyvinyl Alcohol as Stabilizer

Sutriyo¹, Sharon Hanandi¹, Kurnia Sari Setio Putri¹, Okti Nadia Poetri²,
Syifa Annisa³, Ratika Rahmasari^{3*}

Artikel Penelitian

Abstract: According to Global Burden of Disease reported on 2019, about 1.53 million deaths caused by infectious diseases such as pneumonia and diarrhea. Triclosan is one of the active ingredient commonly used in antibacterial soap as one way to prevent the spread of infectious disease. However, bacteria resistance against triclosan has been reported. Silver nanoparticles (AgNP) is an alternative antibacterial that potential to be used in liquid hand wash. However AgNP tend to aggregate during storage, thus stabilizer is needed This study aims to synthesize AgNP, formulate the liquid hand wash contain AgNP with polyvinil alcohol as stabilizer, and evaluate its effectiveness against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella thypi*. AgNP was prepared using the chemical reduction method between silver nitrate and sodium borohydride, followed by its characterization using UV-Vis spectrophotometer, TEM, PSA, and AAS. The physical characteristic of AgNP-liquid hand wash were also evaluated. Further, the antibacterial activity of AgNP-handwash was evaluated by phenol coefficient method. The peak of UV absorption spectrum of colloidal was found at 404.2 nm indicated the presence of AgNP. Ag content in AgNP colloidal was 38.405 mg/Kg \pm 0,008. The spherical shape of AgNP was observed. The AgNP size was 65.1 nm with polydispersity index value of 0.543, and zeta potential value was -22.25 mV. The obtained AgNP-hand wash met the Indonesian standard criteria and was stable for 28 days. The best phenol coefficient value was obtained at formulation with addition of 30% AgNP (0.1 for *S. typhi*, 0.4 for *E. coli*, and 0.01 for *S. aureus*).

Keywords: hand wash, silver nanoparticles, polyvinyl alcohol, antibacterial activity test

- ¹ Laboratory of Pharmaceutical, Faculty of Pharmacy, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia
- ² Faculty of Veteriner, Institut Pertanian Bogor, Indonesia
- ³ Laboratory of Microbiology and Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia

Korespondensi:

Ratika Rahmasari
ratika.rahmasari@farmasi.ui.
ac.id

Abstrak: Berdasarkan laporan *Global Burden Disease* pada tahun 2019, penyakit infeksi telah menyebabkan sekitar 1.5 juta kematian secara global. Penggunaan sabun untuk mencuci tangan merupakan salahsatu cara dalam mencegah penyebaran penyakit infeksi. Triclosan merupakan senyawa antimikroba yang umum terkandung dalam sabun, namun kemunculan resistensi bakteri terhadap triclosan sudah mulai dilaporkan. Perak nanopartikel atau AgNP merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antimikroba dan dapat digunakan dalam sabun tangan cair. Namun, salahsatu kekurangan AgNP dalam sediaan adalah peluang untuk terjadinya agregasi saat penyimpanan, sehingga diperlukan penstabil yang sesuai. Penelitian ini bertujuan untuk membuat AgNP dengan metode reduksi antara perak dan sodium borohydride dengan penstabil Polyvinil alcohol, mengkarakterisasi AgNP yang terbentuk dengan UV-Vis Spektrofotometer, TEM, PSA dan AAS, kemudian memformulasikannya untuk pembuatan sabun cair, serta mengevaluasi karakteristik fisik produk akhir dan aktivitas terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella thypi*. Hasil menunjukkan bahwa ukuran AgNP yang diperoleh adalah 65.1 nm dengan polydispersity index 0.543 dan potensial zera -22.2 5mV. Sabun cair AgNP yang diformulasikan telah memenuhi standar nasional, stabil selama 28 hari, dan kandungan 30% AgNP pada formulasi memberikan nilai koefisien fenol sebesar 0.1 terhadap *S. typhi*, 0.4 terhadap *E. coli*, dan 0.01 terhadap *S. aureus*.

Kata kunci: sabun cuci tangan, perak nanopartikel, polyvinyl alcohol, antibakteri

Introduction

Infectious diseases are the common cause of death after cardiovascular disease, globally, which mainly due to lower respiratory tract infections, diarrhea, and AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome)(1). In addition, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella Typhi* infection contributed to diarrhea fatality (2-4). Most of the infectious disease easily transmitted from one individual to another or from animal to human through direct contact or even contaminated food. Thus, hygienic and sanitation condition become one of the way to prevent the transmission (5) such as handwashing which is easily-practical method to prevent infectious disease transmission in community.

Antibacterial handwash commonly contain triclosan as an antiseptic agent. However, the antibacterial ability of triclosan has been reported have similar activity with ordinary hand wash(6). one of reason caused that phenomena is the triclosan need longer times to bind with bacteria enoyl-acyl carrier protein reductase than the quick-contact in handwash condition (7). In addition, bacteria resistance such as *E. coli* and *S. Typhi* against triclosan has also been reported previously (8,9).

Silver nanoparticles (AgNP) are metal nanoparticles that well known to exhibit antiviral and antibacterial abilities (10,11). Silver nanoparticles has broad spectrum activity against bacteria with multi mechanism of action such as damaging bacterial cell walls and membrane, denaturing bacteria ribosomes, preventing the ATP production and DNA replication, inducing ROS and free radicals, suppressing respiratory enzymes and membrane perforation. To note, this anti bacteria activity has been reported effective against multi-drug-resistant bacteria, Methicillin-resistant *Streptococcus aureus* (12). However, AgNP tend to aggregate after storage which lead to activity reduction (13,14). Thus, stabilizer is needed to prevent the aggregation. Polyvinyl alcohol (PVA) known as steric stabilator for nanoparticles by forming a multilayer layer around metal nanoparticles which stabilized by hydrogen bonds (13). Therefore, The synthesize and evaluation of liquid handwash formulation contained AgNP stabilized by PVA against *S.*

aureus, *S. typhi*, and *E. coli* is reported for the first time in this study

Materials and Methods

Materials and Instruments

Silver nitrate (Merck), polyvinyl alcohol (Sigma Aldrich), glycerin (Palmac), Hydroxypropyl Methylcellulose (HPMC) (MakingCosmetics), cocamidopropyl betaine (Evonik), Ammonium Lauryl Sulfate (ALS) (Kimia Market), citric acid (Golden Sinar Sakti), sodium benzoate (Gunacipta Multirasa), potassium hydroxide (Kimia Market), fragrance (Happy Green), nutrient agar (Merck), nutrient broth (Merck), phenol (Merck), standard soap 0.05% Triclosan (Mikie Oleo Nabati), aqua demineralization (Brataco).

Staphylococcus aureus ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Salmonella typhi* (culture collection of Pharmacy faculty University of Indonesia),

AAS (Shimadzu AA 6300, Japan), PSA (Malvern Mastersizer, UK), TEM (FEI Tecnai G2 SuperTwin, USA), UV-Vis Spectrophotometer (Shimadzu UV 1800-PC, Japan) pH meter (Oakton, USA), Cole-Parmer viscometer (Cole-Parmer, Germany), pycnometer (Pyrex, France), ruler, autoclave model HL-36 (Hirayama Manufacturing Corporation, Japan).

Methods

Synthesis of AgNP with PVA as Stabilizer

Synthesis of AgNP was refer to wang et al., 2005 with some modification (15). 20 mL of AgNO₃ solution with a concentration of 0.005 M was prepared. Then, 10 mL of 2% PVA was added. The mixture was placed on a magnetic stirrer at 660 rpm. After that, 0.6 mL of 0.2 M NaBH₄ solution was added little by little until an orange-yellow color was formed. Next, stirring was continued for up to 3 hours until the silver nitrate was reduced properly. Then an orange-yellow color colloid will be formed due to the reduction of silver nitrate. Colloid was stored in a dry place and kept away from light.

AgNP Characterization

UV-Vis Spectrum Measurement

UV-Vis Absorption Spectrum of AgNP was determined by diluting silver nanoparticle sample using aqua demineralization. After that, the baseline was determined using solvent (aqua demineralization). Then the diluted sample was put into a cuvette and tested with a UV-Vis spectrophotometer at room temperature (25°C). The absorption spectrum of the prepared silver nanoparticle was determined using a UV-Vis spectrophotometer at 300 – 500 nm wavelength range.

Particle Size, Zeta Potential, and PDI Measurement

The particle size, zeta potential, and PDI of the AgNP was evaluated by image analysis software on PSA (Particle Size Analyzer). Samples were prepared by diluting 1 drop of sample in 10 mL of demineralized aqua. The results of the dilution were put into a cuvette and then analyzed using PSA at room temperature (25°C).

Ag Content Measurement of Silver Nanoparticle Colloid

Ag content measurement of silver nanoparticles was carried out using AAS (Atomic Absorption Spectrophotometer). The concentration of silver nanoparticles was determined with nitric acid solution by wet digestion method. The sample was dissolved in nitric acid until homogeneous and transferred to

a measuring flask. Next, the samples were analyzed at a wavelength of 328.1 nm. The absorbance value obtained was calculated using the standard silver solution calibration curve equation to obtain the sample content.

Particle Morphology

Particle morphology was determined using TEM (Transmission Electron Microscopy). The test is carried out by dropping the sample on a cooper grid that has been coated with carbon and then dried at room temperature.

Formulation of Liquid AgNP Hand Wash

Two formulation of liquid hand wash containing AgNP, named F1 and F2, were prepared according to **Table 1**.

Evaluation of Silver Nanoparticle Liquid Hand Wash

Organoleptic Test

Organoleptic testing was carried out by observing the visual condition, color, smell and stability of hand washes at room temperature on day 0, 7, 14, 21, and 28 to see the stability of the preparation (16,17). The evaluation is refer to Indonesia National standard (SNI) for pharmaceutical product (18).

Table 1. Formulation of Antibacterial Liquid Hand Wash with Silver Nanoparticles

Materials	F1 (%)	F2 (%)
Silver nanoparticle	20	30
Glycerin	10	10
HPMC	0,3	0,3
Cocamidopropyl betaine	5	5
Sodium Benzoate	0,2	0,2
Ammonium Lauryl Sulphate	2	2
KOH	1	1
Citric Acid	1	1
<i>Fragrance</i>	0,2	0,2
Aqua demineralization	Ad 100	Ad 100

Note: F1 refer to Formula one, F2 refer to Formula 2

pH evaluation

Measurements were carried out using a pH meter at a temperature of $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ (16). The instrument was calibrated in a neutral solution with a pH of 7.0 and a buffer of pH 4.0, followed by electrode rinsed with distilled water and dried. The calibrated electrode was put in the sample until a constant pH value was shown. According to SNI, the pH requirement for liquid hand wash is pH 4 to 11 (18). pH measurements were carried out on day 0, 7, 14, 21, and 28.

Viscosity Measurement

Viscosity was measured with Cole-Parmer viscometer. The sample was put into the container up to its limit mark. The spindle was paired and turned on until a constant value was obtained. Viscosity measurements were carried out on days 0, 7, 14, 21, and 28.

Foam Height Measurement

A sample of 1 gram was dissolved in 10 mL of distilled water and then put into a 100 mL measuring glass. The measuring glass was shaken for 20 seconds regularly and then the height of the foam formed was measured. After 5 minutes, the foam height was measured again (19). The criteria for good foam stability according to SNI are 13-220 mm (20). Tests were carried out on days 0, 7, 14, 21, and 28.

Density Measurement

A clean and dry pycnometer was calibrated by determining the weight of the empty pycnometer.

Then, the pycnometer was filled with distilled water and then weighed again. followed by addition of sample into the pycnometer then weighed. According to SNI, a good specific gravity criterion is in the range of 1.01 – 1.10 g/mL (20).

Ag Content Measurement of Silver Nanoparticle Liquid Hand Wash

Ag content measurement was done using AAS with the same method as silver nanoparticles colloid.

Coefficient phenol of Silver Nanoparticle Liquid Hand Wash

Coefficient phenol was determined following to rideal at al, 1907 with some modification (21). First, activity of phenol as positive control against tested bacteria (*S. aureus*, *E. coli*, and *S. typhi*) were carried out by preparing 3 series of test tubes consisting of a phenol solution in a ratio of 1:40; 1:80; and 1:100. Each bacteria were then inoculated by adding 0.5 mL of 10^6 bacteria/mL in each test tube followed by recording the contact time. After a contact time of 5 minutes, 1 drop of liquid was taken with a loop, inoculated into a tube containing 5 mL of Nutrient Broth, and incubated at 37°C incubator for 24 hours. This method was repeated at 10 and 15 minutes contact. The turbidity of the test tube was observed. The phenol concentration which tube showed turbidity at 5 minutes and but clear at 10 minutes were selected. The phenol coefficient was calculated as follow:

Coefficient Phenol =

$$\frac{\text{Sample concentration which shown turbidity after 5 minutes and clear after 10 minutes incubation}}{\text{Phenol concentration which shown turbidity after 5 minutes and clear after 10 minutes incubation}}$$

Determination of coefficient phenol of liquid handwash was performed as follow: dilution series of tubes were prepared and the standard phenol solution with adjusted dilutions as control results. In a test tube containing a standard solution of phenol, 0.5 mL of a culture of 10^6 bacteria/mL (*S. aureus* or *E. coli* or *S. typhi*) was added and then shaken until homogeneous. After a 5 minutes contacted, 1 drop of liquid was taken

with a loop, inoculated into a tube containing 5 mL of Nutrient Broth, and incubated at 37°C incubator for 24 hours. This method was repeated at 10 and 15 minutes contact. Then the same treatment was carried out on the first, second, and third test solutions. Tubes that experience turbidity indicate the presence of bacterial growth and clear tubes indicate the absence of bacterial growth (22).

Furthermore, the same test was also carried out on test solutions F2, F0 (bases only), and standard hand wash which contained 0.05% Triclosan. The test was carried to each of bacteria in duplicate. Phenol coefficient value was calculated by formulation mention above. Coefficient phenol evaluation was carried out on day 0 and 28 to see the effectiveness of AgNP liquid handwash after storage.

Hasil dan Diskusi

Synthesis of Silver Nanoparticles with PVA as Stabilizer



Figure 1. Visual appearance of AgNP after 24 hours

The yellowish color of AgNP after stabilization by PVA as shown at **Figure 1**, is due to the excitation of surface plasmons on metal nanoparticles (23). The nucleation, coalescence, and the growth stage are step of AgNP formation (24). The nucleation step occurs when the first or second drops of sodium borohydride were added to a mixture of silver nitrate and PVA. In this process, there was a rapid formation of black-colored particles, those particles are the nuclei of the smallest silver nanoparticles which then combine to become larger. Followed to that the particles grow and reach a stable size which is

indicated by a change in the color of the colloid to yellowish or yellow-orange (25). However, further aggregation of AgNP particle was prevented by PVA that worked as coating particles by steric stabilization mechanism, thus the yellowish color could be maintained well.

Silver Nanoparticles Characterization

UV-Vis Spectrum Measurement

Based on spectrogram shown at **Figure 2A**, respectively, the peak was obtained at a wavelength of 404.2 nm with an absorbance of 0.601 which indicated that AgNPs have been formed. As previously reported, silver nanoparticles have a unique absorption, which is found in the wavelength range of 400 to 500 nm and correlate with particles size (26,27). The peak formed at the smaller wavelength as shown at **Figure 2A** and **Figure 2C** indicates that the particle size formed is also getting smaller (27).

Particle Morphology

The morphology and shape of the particles as showed in **Figure 2B**, were determined using TEM. Based on observation, the obtained AgNP had a spherical uniform shape. To note that nanoparticle with a spherical shape are generally more thermodynamically stable (28,29). In addition, an analysis using EDS (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy) was also carried out to see the content of colloidal silver nanoparticles made. The results of the EDS analysis as seen in **Figure 2C**, showed that Ag has the highest spectrum. Based on the % weight of the Ag element, a value of 60.79% was obtained. This indicated that the silver content on the colloid was quite large.

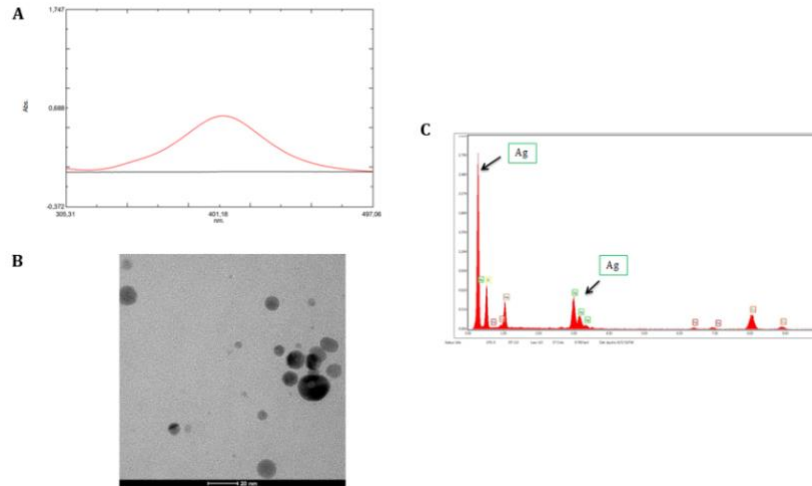


Figure 2. AgNP Characterization. A) UV-Vis Spectrum of Silver Nanoparticles; B) Morphology of Silver Nanoparticles Analyzed by TEM; C) EDS Spectrum of Silver Nanoparticles Colloid

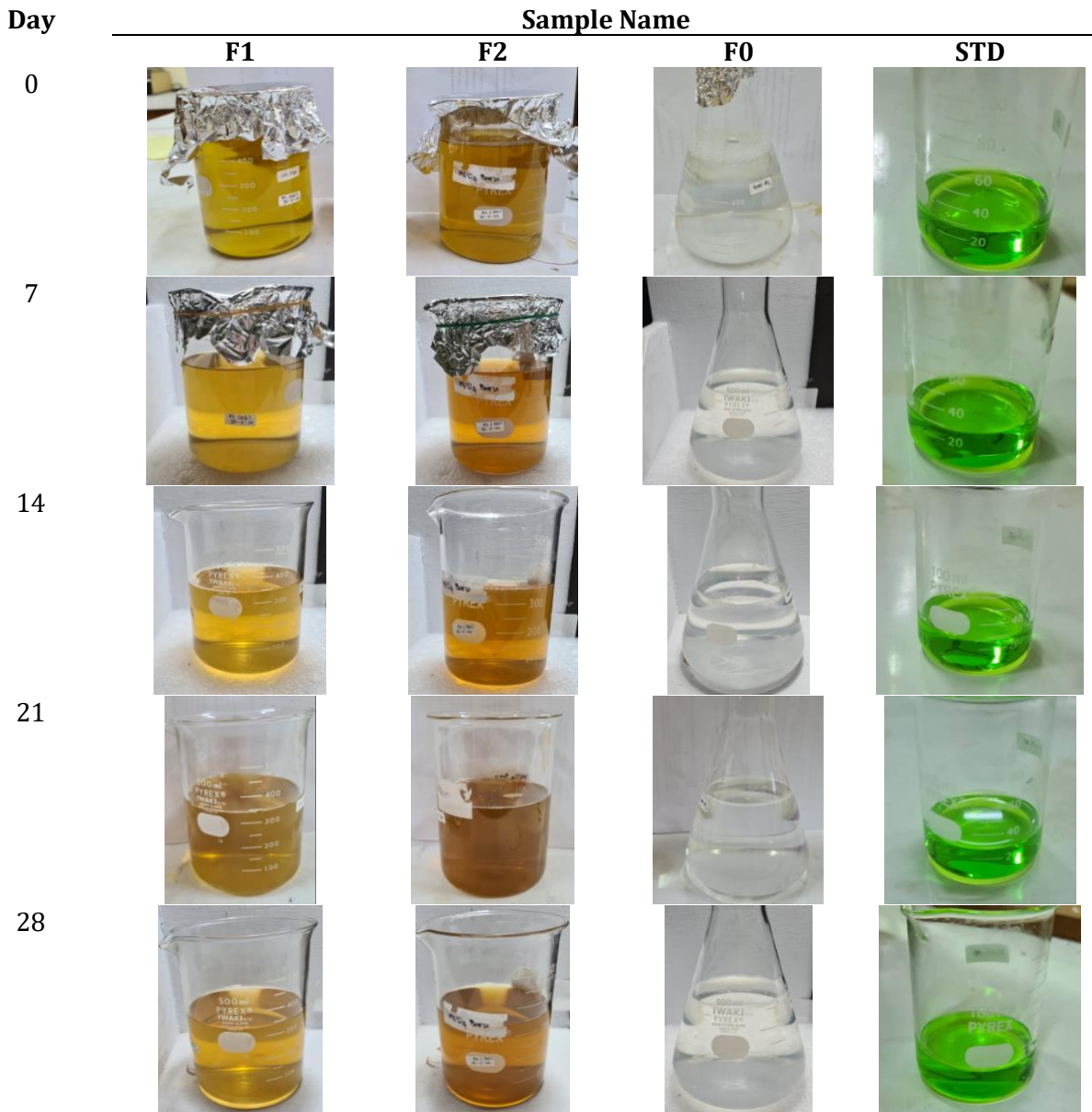


Figure 3. AgNP liquid hand wash visual characterization

Particle Size, Zeta Potential, and PDI Measurement

PSA can analyse the size and distribution of particles due to Brownian motion, a pattern of random motion of particles (28). The data obtained from PSA can be seen in **Table 2**, respectively. The average size of obtained AgNP formed was $65,1 \pm 0,27$ nm. This value meets the requirements for a good silver nanoparticle size which is below 100 nm (29). However, the size of

the particles formed was larger than 50 nm which due to the PVA coating AgNP.

Zeta potential is a parameter used to determine the nanoparticles stability which measure the electric charge on the surface of the particles. Nanoparticles are considered to have good stability when the zeta potential value less than -30 mV or more than +30 mV. Those value indicate the nanoparticles are not prone to agglomeration (23). In opposite, zeta potential values in the range of -30 mV and +30 mV tend to

cause aggregation because there is an attractive Van der Waals force (30). The potential zeta data of obtained AgNP as showed in **Table 2**, respectively was -22.25 mV which is quite close to -30 mV. Thus, the colloid formed can be concluded in stable condition. The negative zeta potential value indicated the presence of BH⁴⁻ ions layer that have a negative charge (23).

The PDI values obtained was in the range of 0 to 1 as showed in **Table 2**, respectively. Particle sizes that have a PDI value less than 0.7, indicate monodisperse particles. Meanwhile, a PDI value close to 1 indicates that the particles have various sizes (polydisperse) (31). Thus, the obtained AgNP have monodisperse properties which tend to maintain their size and not experience aggregation. Therefore, they are superior to polydisperse particles, especially in optical, biomedical, and magnetic applications (32).

Ag Content of Silver Nanoparticle Colloid

Silver (Ag) content in colloidal silver nanoparticles was determined using Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS). Results of the Ag content in colloidal silver nanoparticles made can be seen in **Table 2**, respectively. From

these results, the average value of Ag content was 38.405 mg/Kg which was tend to be small because PVA stabilizers can reduce the rate of reduction of Ag⁺ ions to Ag⁰ (33).

Evaluation of Liquid Hand Wash with Silver Nanoparticles

In this study two formulations of liquid AgNP handwash were prepared as referred to method section, **Table 1** respectively. Thus, the evaluation of characteristic and stability need to be performed.

Organoleptic Test

Organoleptic tests were carried out at room temperature ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) on two samples of liquid hand wash containing silver nanoparticles, which are F1 (Formulation with 20% colloidal silver nanoparticles) and F2 (Formulation with 30% colloidal silver nanoparticles). In addition, tests were also carried out on Bases only (F0) and standard soap with triclosan active ingredient (STD). The visual results of organoleptic testing of soap containing silver nanoparticles can be seen in **Table 3**.

Table 2. AgNP size, zeta potential and polydispersity index

Evaluation	Value	Average
DV 90* (nm)	52,6 77,5	65,1 \pm 0,270
Zeta Potential (mV)	-24,4 -20,1	- 22,25 \pm 0,136
Polydispersity index	0,54 0,546	0,543 \pm 0,007
Ag Content (mg/Kg)	38,64 38,17	38,405 \pm 0,008

Table 3. Average pH and viscosity of AgNP Liquid Hand Wash

Evaluation	Sample	Average				
		Day 0	Day 7	Day 14	Day 21	Day 28
PH	F1	9,51 \pm 0,001	9,27 \pm 0,001	9,13 \pm 0,002	8,68 \pm 0,003	8,69 \pm 0,002
	F2	9,58 \pm 0,001	9,40 \pm 0,002	9,26 \pm 0,001	8,84 \pm 0,001	8,81 \pm 0,002
	STD	6,54 \pm 0,002	6,48 \pm 0,002	6,44 \pm 0,001	6,44 \pm 0,002	6,48 \pm 0,002
	F0	8,61 \pm 0,001	8,57 \pm 0,001	8,35 \pm 0,001	8,38 \pm 0,002	8,38 \pm 0,003
Viscosity (cP)	F1	233,3 \pm 0,009	202,4 \pm 0,015	200,3 \pm 0,014	196,2 \pm 0,009	189,2 \pm 0,009
	F2	234,6 \pm 0,027	204,8 \pm 0,010	195,5 \pm 0,008	187,9 \pm 0,011	183,6 \pm 0,013
	STD	625,9 \pm 0,005	630,7 \pm 0,003	627,8 \pm 0,002	626,2 \pm 0,001	621,7 \pm 0,002
	F0	232,2 \pm 0,021	202,6 \pm 0,005	195,4 \pm 0,016	188,2 \pm 0,016	186,1 \pm 0,024
	F0	232,2 \pm 0,021	202,6 \pm 0,005	195,4 \pm 0,016	188,2 \pm 0,016	186,1 \pm 0,024

Table 4. Result of Foam Height Measurement

Sample	Foam Height (cm)									
	Day 0		Day 7		Day 14		Day 21		Day 28	
	t0	t5	t0	t5	t0	t5	t0	t5	t0	t5
F0	1,5	1,6	1,4	1,6	1,5	1,2	1,5	1,4	1,5	1,4
F1	1,5	1,4	1,6	1,5	1,5	1,4	1,6	1,6	1,5	1,5
F2	1,4	1,2	1,5	1,4	1,3	1,3	1,6	1,5	1,6	1,5
STD	1,5	1,5	1,6	1,6	1,5	1,4	1,5	1,4	1,5	1,4

Table 5. Average Density and Ag Content of AgNP Liquid Hand Wash

Sample	Average Density (g/mL)	Average Ag content (mg/Kg)
F1	1,0381 ± 0,0001	4,80 ± 0,004
F2	1,0401 ± 0,0007	9,62 ± 0,005
F0	1,0357 ± 0,0001	-
STD	1,0144 ± 0,0006	-

Based on the test results, F1 soap has a yellowish color due to the addition of colloidal silver nanoparticles. On the otherhand F2 soap was brownish yellow because more colloidal silver nanoparticles were added. The standard soap used was green due to the addition of green dye. Based on the observations made, the soap looks transparent and all the ingredients were well mixed. Based on organoleptic testing conducted for 28 days, all samples did not change color and shape. Therefore, all hand wash samples were physically stable during 28 days of storage.

pH Measurements

Based on the pH test results on **Table 3**, the pH of F1 and F2 soaps have higher pH than the blank. This was because silver nanoparticles have a pH that tends to be alkaline thus F2 preparations that have higher levels of silver nanoparticles have a higher pH, which is in the range of 7-11 (33). Storage for 28 days resulted in pH decrease of F0, F1, and F2. This due to other ingredients that had an acidic pH, such as glycerin³³. After storage for 21 and 28 days, the pH obtained has reached stability. To note, the obtained pH of prepared liquid AgNP handwash was meet the SNI criteria (18).

Viscosity Measurements

Based on the results of the viscosity measurement that can be seen in **Table 4**, it can be seen that after 28 days of storage, there was a decrease in the viscosity of the liquid hand wash samples containing silver nanoparticles and blanks. This can occur because of the presence of glycerin which functions as a humectant that has hygroscopic properties (35). This allows absorption of moisture so the water content in the preparation increases. However, viscosity is not one of the requirements for proper soap according to SNI, but the thickness of the soap will affects consumers' interest.

Foam Height Measurement

Foam height test was indicated that all the prepared formulas could maintain the foam well after 5 minutes as seen in Table 4, respectively. The foam resistance of all prepared formula is also similar to standard hand wash and meets the requirements of SNI, which is in the range of 13-220 mm (20). In addition, it can be seen that the addition of silver nanoparticles did not affect the height of the foam formed as evaluation at day 28 showed the foam height remained good.

Density Measurement

Based on the results in **Table 5**, it can be seen that F2 has the highest density followed by F1, and blank. This difference occurs due to the additional weight of the silver nanoparticles, which is about 10 g/mL (36). Density of samples made was above the standard hand wash, however it meet the density requirements of SNI, which were in the range of 1.01 – 1.10 g/mL (20).

Ag Content Measurement of Liquid Hand Wash with Silver Nanoparticles

The average of Ag concentration in F1 was 4.80 mg/Kg and F2 was 9.62 mg/Kg (**Table 5** respectively). The levels obtained correspond to the number of AgNP added to each formulation (F1 was 20% and F2 was 30%), respectively of the total hand wash formulation. Ag levels obtained in liquid hand soap are small because the Ag levels in colloidal silver nanoparticles made are also small, namely 38,405 mg/Kg.

Antibacterial Activity Test of Liquid Hand Wash with AgNP

Phenol Activity Test

The phenol coefficient value of phenol was different against tested bacterias as shown at **Table 6**, respectively. This is due to *Staphylococcus aureus* is a gram-positive bacterium with a thicker peptidoglycan layer than *Salmonella typhi* and *Escherichia coli* which are gram-negative bacteria. Phenol has several mechanisms of action as antibacterial, such as damaging bacteria's external membrane, reacting on bacterial wall (which distinguishes its action on gram-positive and negative bacteria), and increasing the affinity of cytoplasmic membrane by binding to membrane proteins or through slower passive diffusion which causes leakage in cells (37).

Liquid Hand Wash with Silver Nanoparticles Activity Test

Based on the value of the phenol coefficient obtained in **Table 7**, it can be seen that the phenol coefficient of F0 cannot be determined because it didn't have antibacterial ability within 15 minutes of contact time. This proves that the addition of preservatives does not affect the antibacterial activity of the soap in a fast contact time. The phenol coefficient value of the standard soap and soap samples showed coefficient value less than 1 which indicate the bactericidal ability of the standard soap and soap samples was smaller than that of phenol (38). To note, it was observed that the antibacterial ability of F2 was better than F1. This due to F2 has higher content of silver nanoparticles (30%, **Table 1** respectively). However, F1 and F2 had the same antibacterial ability against *S. aureus*. This is because *S. aureus* has thick layer of peptidoglycan so it is more difficult for silver nanoparticles to enter through the bacterial surface. The small phenol coefficient value compared to standard hand wash can be caused by the small silver nanoparticle content, which were 4.8 ppm for F1 (20% in formula) and 9.6 ppm for F2 (30% in formula).

In *Salmonella typhi*, the phenol coefficient value were 0.01 for F1 and 0.1 for F2 and standard hand wash. Then on *Escherichia coli*, the coefficient phenol values obtained were 0.1 for F1, 0.4 for F2, and 0.2 for standard hand wash. This is in accordance to previous research conducted by Qing et al., in 2018 that silver nanoparticles have better antibacterial activity against gram-negative bacteria due to thinner cell walls making them easier to penetrate.

Table 6. Coefficient Phenol Result on Positive Control

Bacteria	Ratio	Contact Time		
		5"	10"	15"
<i>Staphylococcus aureus</i>	1:40	+	-	-
	0.09722	+	+	+
	0.11111	+	+	+
<i>Salmonella typhi</i>	1:40	-	+	+
	1:80	+	+	+
	0.11111	+	-	-
<i>Escherichia coli</i>	1:40	-	+	+
	1:80	+	+	+
	0.11111	+	-	-

Notes: (+) means turbid (bacteria grow), (-) means clear (bacteria don't grow)

Table 7. Coefficient Phenol Value of Samples

Bacteria	Sample	Coefficient Phenol Value	
		Day 0	Day 28
<i>Staphylococcus aureus</i>	F0	-	-
	F1	0,025	0,025
	F2	0,025	0,025
	Standard	0,5	0,5
<i>Salmonella typhi</i>	F0	-	-
	F1	0,01	0,01
	F2	0,1	0,1
	Standard	0,1	0,1
<i>Escherichia coli</i>	F0	-	-
	F1	0,1	0,1
	F2	0,4	0,4
	Standard	0,2	0,2

In addition, the antibacterial ability of silver nanoparticles against *S. typhi* was smaller than that of *E. coli* which is also in accordance with previous research (39).

Against *E.coli*, F2 hand wash has higher antibacterial ability compared to standard hand wash because triclosan has a fairly specific antibacterial ability, namely the fatty acid synthesis process from bacteria where triclosan will bind enoyl-ACP (-acyl carrier protein) reductase and 3-oxoacyl-acyl-carrier protein synthase I and II which disrupt lipid biosynthesis (40). However, triclosan was more effective against *Staphylococcus aureus* because it may affect its regulatory system. Coefficient phenol evaluation on the 28th day, resulted in the same coefficient phenol value of F0, F1, F2, and standard hand wash. Those results indicated the

stable antiseptic activity of formulated liquid AgNp handwash after 28 days of storage.

Conclusion

Silver nanoparticles with PVA stabilizer have good characteristics, including having particle size around 65.1 nm, UV absorption spectrum at wavelength 404.2 nm, a polydispersity index value of 0.543, zeta potential value of -22.25 mV, spherical form, and Ag content of 38.405 mg/Kg. The liquid hand wash formulations made, F1 and F2 are stable after 28 days of storage and meet the criteria for hand wash according to SNI. Therefore, silver nanoparticles with PVA stabilizer can be used as an alternative agent for antibacterial liquid hand wash, especially F2 with 30% colloidal silver nanoparticles (equal to 9.6 ppm AgNP) because it has better antibacterial activity, especially in gram-negative bacteria with a

phenol coefficient value of 0, 1 against *S.typhi* and 0.4 against *E.coli*, and 0.01 against *S. aureus*.

Author's Contribution

All authors have contributed according to their duties and responsibilities.

Conflict of Interest

No conflict of interests has been declared by all authors.

References

1. Dyawanapelly S, Ghodke SB, Vishwanathan R, Dandekar P, Jain R. RNA interference-based therapeutics: Molecular platforms for infectious diseases. *J Biomed Nanotechnol.* 2014;10(9):1998-2037. doi:10.1166/JBN.2014.1929
2. Bloom DE, Cadarette D. Infectious Disease Threats in the Twenty-First Century: Strengthening the Global Response. *Front Immunol.* 2019;0(MAR):549. doi:10.3389/FIMMU.2019.00549
3. Dadonaite B. More than half a million children die from diarrhea each year. How do we prevent this? <https://ourworldindata.org/childhood-diarrheal-diseases>. Published 2019. Accessed January 21, 2022.
4. Tim Riskesdas 2018. *Laporan Nasional RISKESDAS 2018*; 2019. http://labdata.litbang.kemkes.go.id/images/download/laporan/RKD/2018/Laporan_Nasional_RKD2018_FINAL.pdf. Accessed June 13, 2022.
5. Bin S, Sun G, Chen C-C. Spread of Infectious Disease Modeling and Analysis of Different Factors on Spread of Infectious Disease Based on Cellular Automata. *Int J Environ Res Public Health.* 2019;16(23). doi:10.3390/IJERPH16234683
6. Kim SA, Moon H, Lee K, Rhee MS. Bactericidal effects of triclosan in soap both in vitro and in vivo. 2015. doi:10.1093/jac/dkv275
7. Dhende VP, Hardin IR, Locklin J. Durable antimicrobial textiles: types, finishes and applications. *Underst Improv Durab Text.* January 2012:145-173. doi:10.1533/9780857097644.2.145
8. Carey DE, McNamara PJ. The impact of triclosan on the spread of antibiotic resistance in the environment. *Front Microbiol.* 2014;5(DEC). doi:10.3389/FMICB.2014.00780
9. Zeng W, Xu W, Xu Y, et al. The prevalence and mechanism of triclosan resistance in Escherichia coli isolated from urine samples in Wenzhou, China. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2020;9(1):1-10. doi:10.1186/S13756-020-00823-5/FIGURES/5
10. Lin N, Verma D, Saini N, et al. Antiviral nanoparticles for sanitizing surfaces: A roadmap to self-sterilizing against COVID-19. *Nano Today.* 2021;40:101267. doi:10.1016/J.NANTOD.2021.101267
11. Yin IX, Zhang J, Zhao IS, Mei ML, Li Q, Chu CH. The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. *Int J Nanomedicine.* 2020;15:2555. doi:10.2147/IJN.S246764
12. Capjak I, Avdicevic M, Sikiris M. Behavior of silver nanoparticles in wastewater: systematic investigation on the combined effects of surfactants and electrolytes in the model systems. . 2018. doi: 10.1039/c8ew00317c. Accessed September 27, 2021.
13. Kyrychenko A, Pasko DA, Kalugin ON. Poly(vinyl alcohol) as a water protecting agent for silver nanoparticles: The role of polymer size and structure. *Phys Chem Chem Phys.* 2017;19(13):8742-8756. doi:10.1039/C6CP05562A
14. Dewi A. Pengaruh Penstabil Dendrimer Poliamidoamin Generasi 4 (PAMAM G4) Dibandingkan Polivinil Alkohol (PVA) Terhadap Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Perak. 2021;4.
15. Wang H, Qiao X, Chen J, Ding S. Preparation of silver nanoparticles by chemical reduction method. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.* 2005; 256(2-3): 111-115. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.12>.

- 058.
16. Lestari DF, Fatimatuzzahra, Dominica D, Wibowo RH. The Formulation of Liquid Hand Wash Made From Coconut Shell Activated Charcoal. *Proc 3rd KOBICONGR Int Natl Conf (KOBICINC 2020)*. 2021;14(Kobicinc 2020):451-455. doi:10.2991/absr.k.210621.077
 17. Kemenkes RI. Farmakope Indonesia Edisi VI; 2020.
 18. Badan Standardisasi Nasional. *Sabun Cair Pembersih Tangan*. Jakarta; 2017. https://www.academia.edu/34871065/Sabun_cair_pembersih_tangan. Accessed November 25, 2021.
 19. Kursia S, Fatmawaty A, Hafid M. The Activity, Formulation and Effectiveness of Liquid Soap Preparations of *Arachis hypogaea* L. Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Pengujian Aktivitas, Formulasi dan Efektivitas Sediaan Sabun Cair Ekstrak Etanol Limbah Kulit Luar Kacang. 2020;5(2):48-54.
 20. Badan Standardisasi Nasional. Standar Mutu Sabun Mandi Cair. *Natl Stand Agency Indones*. 1996:1-15.
 21. Rideal S, Ainslie-Walker JT. The Rideal-Walker Co-Efficient. *Ind Med Gaz*. 1907;42(10):395. PMID: 29004998; PMCID: PMC5165861.
 22. Malik A, Radji M, Suryadi H. *Penuntun Kerja Di Laboratorium Mikrobiologi Dan Praktikum Mikrobiologi Farmasi*. Depok: Fakultas Farmasi Universitas Indonesia; 2018.
 23. Erdogan O, Abbak M, Len G, et al. Green synthesis of silver nanoparticles via *Cynara scolymus* leaf extracts: The characterization, anticancer potential with photodynamic therapy in MCF7 cells. 2019. doi:10.1371/journal.pone.0216496
 24. Arya G, Sharma N, Mankamna R, Nimesh S. Antimicrobial Silver Nanoparticles: Future of Nanomaterials. *Nanotechnol Life Sci*. 2019:89-119. doi:10.1007/978-3-030-16534-5_6
 25. Badiah HI, Seede F, Supriyanto G, Zaidan AH. Synthesis of Silver Nanoparticles and the Development in Analysis Method. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2019;217(1). doi:10.1088/1755-1315/217/1/012005
 26. Chahar V, Sharma B, Shukla G, Srivastava A, Bhatnagar A. Study of antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized using green and chemical approach. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp*. 2018;554:149-155. doi:10.1016/j.colsurfa.2018.06.012
 27. Alim-Al-Razy M, Asik Bayazid GM, Ur Rahman R, Bosu R, Samim Shamma S. Silver nanoparticle synthesis, UV-Vis spectroscopy to find particle size and measure resistance of colloidal solution. 2020:12020. doi:10.1088/1742-6596/1706/1/012020
 28. Anindya AL. Particle size analyser: beberapa penggunaan instrumen hamburan cahaya. *Semin Nas Instrumentasi, Kontrol dan Otomasi*. 2018:10-11.
 29. Khodashenas B, Ghorbani HR. Synthesis of silver nanoparticles with different shapes. *Arab J Chem*. 2019;12(8):1823-1838. doi:10.1016/J.ARABJC.2014.12.014
 30. Joseph E, Singhvi G. Multifunctional nanocrystals for cancer therapy: a potential nanocarrier. *Nanomater Drug Deliv Ther*. January 2019:91-116. doi:10.1016/B978-0-12-816505-8.00007-2
 31. Honary S, Barabadi H, Gharaei-Fathabad E, Naghibi F. Green synthesis of silver nanoparticles induced by the fungus *Penicillium citrinum*. *Trop J Pharm Res*. 2013;12(1):7-11. doi:10.4314/TJPR.V12I1.2
 32. Wang D, Markus J, Kim YJ, et al. Coalescence of functional gold and monodisperse silver nanoparticles mediated by black *Panax ginseng* Meyer root extract. *Int J Nanomedicine*. 2016;11:6621-6634. doi:10.2147/IJN.S113692
 33. Ardani HK. Karakterisasi Nanopartikel Perak Yang Karakterisasi Nanopartikel Perak Yang Dimodifikasi Polivinil Alkohol (Pva) Dan Penambahan Anion Untuk Mendeteksi. 2016.
 34. Marciniak L, Nowak M, Trojanowska A, Tytkowski B, Jastrzab R. The effect of pH on the size of silver nanoparticles obtained in

- the reduction reaction with citric and malic acids. *Materials (Basel)*. 2020;13(23):1-12. doi:10.3390/ma13235444
35. Rowe R, Sheskey P, Quinn M. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Vol 6th Editio. London: Pharmaceutical Press; 2009.
36. Nissan, I., Schori, H., Lipovsky, A. et al. Effect of different densities of silver nanoparticles on neuronal growth. *J Nanopart Res*. 2016; 8:22. <https://doi.org/10.1007/s11051-016-3532-9>
37. Ergüden B. Phenol group of terpenoids is crucial for antibacterial activity upon ion leakage. *Lett Appl Microbiol*. 2021 Oct;73(4):438-445. doi: 10.1111/lam.13529. Epub 2021 Jul 9 PMID: 34176125.
38. Shufyani F, Pratiwi A, Siringori w. Phenol coefficient of disinfectant products distributed in a supermarket of lubuk pakam. 2018. <http://ejournal.delihusada.ac.id/index.php/JPFH/article/view/58/5>. Accessed June 7, 2022.
39. Gabrielyan L, Badalyan H, Gevorgyan V, Trchounian A. Comparable antibacterial effects and action mechanisms of silver and iron oxide nanoparticles on Escherichia coli and Salmonella typhimurium. *Sci Reports* 2020 101. 2020;10(1):1-12. doi:10.1038/s41598-020-70211-x
40. Shrestha P, Zhang Y, Chen WJ, Wong TY. Triclosan: antimicrobial mechanisms, antibiotics interactions, clinical applications, and human health. *J Environ Sci Heal Part C Toxicol Carcinog*. 2020;38(3):245-268. doi:10.1080/26896583.2020.1809286

Effect of Flyers on Knowledge and Adherence to Medication of Hypertensive Patients

Husnawati^{1*}, Fitra Ramadhan¹, Septi Muharni¹, Fina Aryani¹,
Cindy Oktaviana Laia¹, Reni Zulfitri²

Artikel Penelitian

Abstract: Knowledge and adherence to taking medication in patients with hypertension is very important because knowing and adhering in taking antihypertensive drugs can control the blood pressure of people with hypertension. The purpose of this study was to determine the effect of giving flyers on knowledge and adherence to taking medication for hypertensive patients. The method used in this research is a quasi-experimental method, with a non-randomized control group pretest and posttest design which was carried out on 96 respondents with purposive sampling technique. Collecting data for knowledge using the knowledge questionnaire, and adherence using the MMAS-8 scale. Data were analyzed using Wilcoxon test and Mann-Whitney test. The results of the study on hypertensive patients showed that giving flyers had a significant effect on knowledge with a p value = 0.000 and on patient adherence with a p value = 0.000.

Keywords: hypertension, flyers, knowledge, adherence

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

² Fakultas Keperawatan
Universitas Riau, Pekanbaru,
Riau, Indonesia

Korespondensi:

Husnawati
hoe5nawati@gmail.com

Abstrak: Pengetahuan dan kepatuhan minum obat pada penderita hipertensi sangat penting karena pengetahuan dan kepatuhan dalam minum obat antihipertensi dapat mengontrol tekanan darah penderita hipertensi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian flyer terhadap pengetahuan dan kepatuhan minum obat pada pasien hipertensi. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen semu, dengan rancangan *pretest* dan *posttest non randomized control group design* yang dilakukan terhadap 96 responden dengan teknik *purposive sampling*. Pengumpulan data untuk pengetahuan menggunakan kuesioner pengetahuan, dan kepatuhan menggunakan MMAS-8. Analisis data menggunakan uji Wilcoxon dan uji Mann-Whitney. Hasil penelitian pada pasien hipertensi menunjukkan bahwa pemberian flyer berpengaruh signifikan terhadap pengetahuan dengan p value = 0,000 dan terhadap kepatuhan pasien dengan p value = 0,000

Kata kunci: hipertensi, flyers, pengetahuan, kepatuhan

Pendahuluan

Hypertension presents a distinctive problem in treatment and is a lifelong disease that causes few symptoms until an advanced stage. Hypertension contributes to 55% of global deaths caused by cardiovascular disease (1). The prevalence of hypertension in Indonesia tends to increase along with increasing age, where the highest prevalence is in the >75 year age group of 63.8%. In a study at the University of North Carolina involving about nine thousand men and women over a period of more than 11.6 years, cardiovascular disease rates increased significantly with increasing blood pressure. Compared to patients with normal blood pressure, the risk of developing cardiovascular disease, especially stroke, with high blood pressure is two and a half times greater (2).

Several research results show that the patient's medication adherence level is still low, such as: A study in Portugal showed that only 46.2% of hypertensive patients showed high adherence (3). The results of the study in Hong Kong also showed that only 32.4% of patients showed optimal adherence (4). The results of the research by Hazwan & Pinatih (2017) show that only 30% of hypertensive patients have high adherence (5). Better adherence to antihypertensive use is also associated with lower cardiovascular mortality (6). A key factor in patient adherence to treatment is understanding of treatment instructions. In this case, understanding of treatment instructions and increasing patient adherence are strongly influenced by pharmaceutical service interventions, namely Drug Information Services (PIO) (7).

Controlling hypertension is included in the main indicators of health development targets in the 2015-2019 national medium-term development plan (RPJMN) in the 2015-2019 Ministry of Health strategic plan, which states that the government through the Indonesian Ministry of Health stated that the target of hypertension prevalence in 2019 decreased from 26.5% in 2013 to 23.4% in 2019 (8). Based on the above considering the importance of knowledge and adherence to antihypertensive drug therapy in controlling blood pressure, researchers were

interested in knowing the effect of giving flyers to the level of knowledge and obedience of hypertensive patients. This study was conducted with the aim of knowing the effect of giving flyers to knowledge and adherence to taking medication for hypertension patients.

Material and Methods

This study used a quasi-experimental method with control group in a pre- and post-test design. The study involved 96 hypertensive patients in Pekanbaru, Indonesia. Purposive sampling was used for selecting respondents. All respondents were divided into two groups, the intervention group and the control group. The intervention group received flyer and the control group received services as usual.

Results and Discussions

Sociodemographic data

The complete results regarding the distribution of respondents' sociodemographic data can be seen in **Table 1**.

Based on the results of the study of patient characteristics, it can be seen that the majority of patients are female. The results of Kamran et al (2014) and Sibomana et al (2019) studies also show similar results, namely that the majority of hypertension sufferers are women (9,10). Research by Agrina et al (2011), states that the high proportion of women is due to a greater relationship between hormonal factors in women's bodies than men (11).

The number of hypertensive patients in the age range of 41-60 years is in line with data from the National Center for Cardiovascular Disease in China in 2010 which also showed that patients with hypertension 45 years and over reached 40%. This is in accordance with research conducted by Udayana (2015) which found the most subjects for hypertension patients based on education level dominated by middle education level as much as 28.6% followed by respondents with low education as much as 25% (12). Based on table, it can be seen that the majority of respondents' occupations are housewives. This is in line with the results of gender that the majority are women.

Table 1. Sociodemographic Data

No.	Sociodemographic data		Amount (n=96)	Percentage (%)
1	Gender	Male	39	40,6
		Female	57	59.4
2	Age Range	early adulthood	2	2.1
		middle adulthood	63	65.6
		elderly adults	31	32.3
3	Education	Low education	16	16.6
		Middle education	71	73.9
		High education	9	9.5
4	Occupational Category	Pension	5	5.2
		Entrepreneur	28	29.2
		Government employee	4	4.2
		Housewife	51	53.1
		Others	8	8.3

Table 2. The Level of Knowledge Data

Level of knowledge	Control group (n=48)				Intervention group (n=48)			
	Pretest		Posttest		Pretest		Posttest	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Low	7	14.6	3	6.3	18	37.5	2	4.2
High	41	85.4	45	93.8	30	62.5	46	95.8

The Level of Knowledge Data

Data about the level of knowledge of hypertensive patients in Pekanbaru can be seen in **Table 2.**

From the knowledge at the time of the pretest and posttest of the control group and intervention group, it can be seen that there are quite a lot of respondents with high knowledge, this is due to several factors. These factors include the age of the respondent, which in the control group is dominated by the age range of 41-60 years and

the age of 61 years. Age is a variable that is always considered in research. According to two traditional attitudes regarding the course of development during life, namely the older, the wiser, the more information you find and the more things you do so that your knowledge increases (13).

The Level of Adherence Data

The level of adherence data of hypertensive patients can be seen in **Table 3.**

Table 3. The Level of Adherence Data

The Level of Adherence	Control Group (n=48)				Intervention Group (n=48)			
	Pretest		Posttest		Pretest		Posttest	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Low	10	20.8	12	25	12	25	2	4.2
Middle	34	70.8	26	54.2	16	33.3	9	18.8
High	4	8.4	10	20.8	20	41.7	37	77.1

From the table above, it can be seen that the majority of respondents in the control group had a moderate level of adherence to taking medication, during the pretest and posttest. In the intervention group, the majority of respondents were at a high level of adherence, both at the pretest and posttest.

The effects of the given flyer against the change of knowledge and adherence of respondents

In **Table 4** it can be seen the effect of giving flyers on changes in patient knowledge and adherence.

Based on the results of this study, it was found that there was a significant difference in the effect of giving flyers to knowledge scores from pretest to posttest in the treatment group, in contrast to the control group which found that there was no significant difference in changes in knowledge scores from pretest to posttest without giving flyer education.

Candrasari's research (2010), there is a significant difference in knowledge before and after being given health education as indicated by a p-value of 0.000 ($p < 0.05$), and research conducted by Firmawati (2014) that providing educational media in the form of educational blogs can increase knowledge about hypertension with p of 0.00 ($p < 0.05$), knowledge of hypertension includes the definition, classification, course of the disease, causative factors, signs and symptoms, risk factors, complications, and management of hypertension (14, 15). From this study, it was found that there

was a significant effect of giving flyers to the adherence score from pretest to posttest in the treatment group, in contrast to the case in the control group which was found that there was no significant effect of changing the adherence score from pretest to posttest in the control group.

This was also obtained by Insaniputri (2012), showing a significant difference in the level of patient adherence at the pretest and posttest which was stated by the p value = 0.000 from the two-tailed test which was smaller than the value (0.050), to test the hypothesis (one-tailed test) showed a value of $p < 0.050$, indicating that the level of patient adherence has increased after being given lecture material and led to a statistically significant increase in the level of patient adherence (16).

The results obtained from the Mann-Whitney test were carried out, the p value was $p = 0.000$ ($p < 0.05$) so it could be concluded that there was a significant difference in score changes between the treatment group and the control group. From the score change data seen in the attachment to the Mann-Whitney test, the difference in knowledge scores shows the difference in the average knowledge of the control group, the average score change is 0.19 and for the knowledge score of the treatment group, the average score change is 1, 48. This means that the provision of educational media in the form of flyers can have a significant effect on changes in the level of knowledge positively in the given treatment group.

Table 4. The effects of the given flyer against the change of knowledge and adherence of respondents

No.	Category	<i>P value</i>	Results
1	Change of pretest and posttest scores of knowledge in the control group	0.09	Not significant
2	Change of pretest and posttest scores of adherence in the control group	0.166	Not significant
3	Change of pretest and posttest scores of knowledge in the intervention group	0.000	Significant
4	Change of pretest and posttest scores of adherence in the intervention group	0.000	Significant
5	Change of knowledge scores between control and intervention group	0.000	Significant
6	Change of adherence scores between control and intervention group	0.000	Significant

These results are in line with research conducted by Saftarini (2015) using different media, there is a significant relationship between the provision of leaflets in increasing respondents' knowledge about progesterin injection contraception (p value = 0.000), and research by Adawiyani (2013) on the effect of media education on the level of knowledge of the respondents showed that there was a significant difference, the effect of giving booklets to the test and control groups on the level of knowledge with a value of $p = 0.000$ (17,18).

The results obtained from the Mann-Whitney test carried out showed p value, namely $p = 0.000$ ($p < 0.05$) so it can be concluded that there was a significant difference between the intervention group and the control group. From the average change in the adherence score for the control group, an average value of 0.13 was obtained, this indicates that there is a change from the pretest score to the control posttest score, but the change is very small. Meanwhile, for the intervention group, the average value for the change from the pretest score to the posttest score was 1.09. This indicates that there is a significant change in the

score. This means that the provision of educational media in the form of flyers can have a significant effect on changes in the level of adherence in the given treatment group.

This is also in accordance with the research conducted by Adawiyani (2013) about the effect of providing educational media on the level of adherence. From his research on the effect of providing education on anemia booklets on adherence to taking blood-added tablets, it was found that there was a significant difference between the test group and the control group on the level of adherence based on the questionnaire with p value = 0.0079 (18). Then the research conducted by Dewanti et al (2015) that there is a significant effect between the group given leaflets and the group not given leaflets on changes in adherence and self-efficacy levels as well as decreasing blood pressure in hypertensive patients (19).

Conclusion

From the results of research on the effect of giving flyers to the knowledge and obedience of hypertension patients at the Sidomulyo Inpatient

Health Center, Pekanbaru City, it was found that there was an effect of providing education through flyer media on knowledge with a p value = 0.000 and obedience with a p value = 0.000.

Acknowledgement

I would like to thank all those who have contributed to the smooth running of this research.

References

1. Zou G, Zhang Z, Walley J, Gong W, Yu Y, Hu R, Yin J, Yu M and Wei X. Use of medications and lifestyles of hypertensive patients with high risk of cardiovascular disease in rural China, *PloS one*. 2015;10(5):p.e0124484.
2. Kowalski RE. *Hypertension Therapy 8 Week Program*, Qanita, Bandung; 2010.
3. Amaral O, Chaves C, Duarte J, Coutinho E, Nelas P, dan Preto O. Treatment adherence in hypertensive patients -a cross-sectional study, *Procedia-Social and Behavioral Sciences*. 2015;171(1):1288–1295. <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2015.01.243>.
4. Wong MCS, Tam WWS, Wang HHX, Cheung CSK, Tong ELH, Cheung NT, dan Griffiths SM. Duration of initial antihypertensive prescription and medication adherence: A cohort study among 203,259 newly diagnosed hypertensive patients, *International Journal of Cardiology*. 2015;182(1):503-508. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2014.12.058>.
5. Hazwan A. dan Pinatih GNI. Gambaran karakteristik penderita hipertensi dan tingkat ketaatan minum obat di wilayah kerja puskesmas Kintamani I, *Intisari Sains Medis*. 2017;8(2):130-134.
6. Wong MCS, Tam WWS, Cheung, CSK, Wang HHX, Tong ELH, Sek ACH, dan Griffiths S. Drug adherence and the incidence of coronary heart disease- and stroke-specific mortality among 218,047 patients newly prescribed an antihypertensive medication: A five-year cohort study, *International Journal of Cardiology*. 2013;168(1):928-933. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.10.048>.
7. Insani WN, Lestari K, Abdullah R, dan Ghassani SK. Pengaruh Pelayanan Informasi Obat terhadap Keberhasilan Terapi Pasien Diabetes Melitus Tipe 2, *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*. 2013;2(4):127-135.
8. Kementerian Kesehatan RI. *Rencana strategis Kementerian Kesehatan 2015-2019*, Kementerian Kesehatan RI. Jakarta: 2015.
9. Kamran A, Ahari SS, Biria M, Malpour A, and Heydari H. Determinants of patient's adherence to hypertension medications: application of health belief model among rural patients, *Annals of Medical and Health Sciences Research*. 2014;4(6):922-927.
10. Sibomana JP, McNamara RL, Walker TD. Patient, clinician and logistic barriers to blood pressure control among adult hypertensives in rural district hospitals in Rwanda: a cross-sectional study, *BMC cardiovascular disorders*. 2019;19(1):231.
11. Agrina A, Rini SS. and Hairitama R. Kepatuhan lansia penderita hipertensi dalam pemenuhan diet hipertensi, *Sorot*. 2011;6(1):46-53.
12. Udayana PAK. Tingkat Kepatuhan Pasien Hipertensi Dalam Mengonsumsi dan Menghindari Faktor Risiko di Wilayah Puskesmas Banjarangkan II. *E-Jurnal Medikal Udayana*. 2015;4(3).
13. Notoatmodjo S. *Metodologi Penelitian Kesehatan*, Rineka Cipta, Jakarta: 2010.
14. Candrasari A. Pengaruh Pendidikan Tentang Hipertensi Terhadap Perubahan Pengetahuan dan Sikap Lansia di Desa Makamhaji Kartasura Sukoharjo. *Fakultas Kedokteran. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Jurnal Biomedika*. 2010;2(2).
15. Firmawati E. Pengaruh Blog Edukatif Tentang Hipertensi Terhadap Pengetahuan Tentang Hipertensi dan Perilaku Diet Hipertensi Pada Pasien Hipertensi di Wilayah Kerja Puskesmas Wirobrajan Yogyakarta. *Muhammadiyah Journal Of Nursing. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta*; 2014.

16. Insaniputri P. Pengaruh Pemberian Ceramah dan Materi Ceramah Terhadap Tingkat Kepatuhan Pasien Terkait Penggunaan Antidiabetes Oral di Puskesmas Beji Kota Depok Tahun 2012, Skripsi. FMIPA: Universitas Indonesia; 2012.
17. Saftarini H. Pengaruh Pemberian Leaflet Terhadap Pengetahuan Akseptor Mengenai Kontrasepsi Suntikan Progestin di Puskesmas Sungai Kakap Kabupaten Kubu Raya Tahun 2015. Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak; 2015.
18. Adawiyani R. Pengaruh Pemberian Booklet Terhadap Pengetahuan, Kepatuhan Minum Obat Tablet Tambah Darah dan Kadar Hemoglobin Ibu Hamil, Jurnal Ilmiah Mahasiswa, Universitas Surabaya. 2013;2(2).
19. Dewanti WA, Andrajati R, Supardi S. Pengaruh Konseling dan Leaflet Terhadap Efikasi Diri, Kepatuhan Minum Obat, dan tekanan darah Pasien Hipertensi di Dua Puskesmas Kota Depok. Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2015;5(1):33-40. p-ISSN: 2085-675X. e-ISSN: 2354-8770.

Miotoksisitas Statin: Kajian Stres Oksidatif

Zulfahmidah¹, Imran Safei², Fajriansyah^{3*}

Artikel Review

¹ Departemen Biokimia,
Fakultas Kedokteran,
Universitas Muslim
Indonesia, Makassar,
Sulawesi Selatan

² Bagian IKFR, Fakultas
Kedokteran, Universitas
Muslim Indonesia, Makassar,
Sulawesi Selatan

³ Departemen Farmakologi
dan Farmasi Klinik, Sekolah
Tinggi Ilmu Farmasi,
Makassar, Sulawesi Selatan

Korespondensi:

Fajriansyah
fajriansyah.fajrin@yahoo.com

Abstract: Statins are a family of drugs used to treat hyperlipidemia with a recognized capacity to prevent disease occurrence. Widespread use of statins is limited by the presence of associated toxicity or intolerance, which affects the level of drug monitoring. Statin toxicity or intolerance varies from 10-15%. Statin-associated muscle symptoms are the most common statin toxicity (SAMS). In this review, we aim to report on the mechanism of action of statins causing the muscle symptoms of SAMS. The results showed that statins cause mitochondrial dysfunction due to oxidative stress. The mechanism of oxidative stress due to statins is due to the inhibition of ubiquinone protein, activation of iNOS, decreased mitochondrial biogenesis, reduction of mitochondrial oxidative phosphorylation. The data reported as a whole may suggest that statins have a major effect on mitochondrial function related to oxidative stress.

Keywords: statins, myotoxicity, oxidative stress

Abstrak: Statin adalah keluarga obat yang digunakan untuk mengobati hiperlipidemia dengan kapasitas yang diakui untuk mencegah kejadian penyakit kardiovaskular. Pemanfaatan statin secara luas dibatasi oleh adanya toksisitas atau intoleransi terkait, yang mempengaruhi tingkat pemantauan obat. Toksisitas atau intoleransi statin bervariasi dari 10-15%. Gejala otot terkait statin adalah toksisitas statin (SAMS) yang paling umum. Dalam review ini, kami bertujuan untuk melaporkan mekanisme kerja statin yang menyebabkan gejala otot SAMS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa statin menyebabkan disfungsi mitokondria akibat adanya stress oksidatif. Mekanisme terjadinya stress oksidatif akibat statin disebabkan karena adanya inhibisi dari protein ubiquinon, aktivasi iNOS, penurunan biogenesis mitokondria, pengurangan fosforilasi oksidatif mitokondria. Secara keseluruhan, data yang dilaporkan dalam tinjauan ini menunjukkan bahwa statin mungkin memiliki efek besar pada fungsi mitokondria terkait stress oksidatif

Kata kunci: statin, miotoksisitas, stress oksidatif

Pendahuluan

Statin termasuk obat yang penggunaannya sangat luas. Statin banyak digunakan untuk menurunkan kolesterol LDL dan pencegahan primer dan sekunder penyakit kardiovaskular.(1,2) Penggunaan Statin meningkat pada usia ≥ 40 tahun dan pasien dengan risiko tinggi *Cardio Vascular Disease* aterosklerotik (3). Hasil meta analisis menunjukkan bahwa dengan pengurangan kadar kolesterol LDL setiap 1 mmol/L nya (38,7 mg/dl) maka akan terjadi pengurangan 22% resiko relatif kejadian vascular dan koroner mayor secara signifikan.(4)

Penggunaan statin juga sudah direkomendasikan dalam berbagai *guideline*. *American Heart Association* (AHA) dan *American College of Cardiology* (ACC) pada tahun 2018 mengeluarkan *guideline* tentang manajemen kolesterol darah, di mana statin direkomendasikan penggunaannya pada populasi pasien aterosklerotik CVD klinis, diabetes mellitus, dan hiperlipidemia dengan target pengurangan kadar kolesterol $\geq 50\%$.(5)

Klasifikasi Statin

Statin dapat diklasifikasikan berdasarkan sumber, metabolisme di hati, sifat fisika-kimia, dan aktivitas spesifik. Berdasarkan sumbernya, Statin yang diperoleh dari fermentasi fungi yaitu, lovastatin (Mevacor), pravastatin (Lipostat, Pravachol) and simvastatin (Zocor); dari proses sintesis yaitu, fluvastatin (Lescol), atorvastatin (Sortis, Lipitor), dan cerivastatin (Baycol, Lipobay). Secara klinik statin yang digunakan yaitu: lovastatin, simvastatin, pravastatin, atorvastatin, dan Fluvastatin (6).

Berdasarkan metabolisme di hati, semua statin mempunyai organ target di hati. Untuk metabolismenya, lovastatin, simvastatin, atorvastatin, dan cerivastatin dimetabolisme oleh sitokrom P450 (CYP 3A4). Fluvastatin dimetabolisme oleh CYP 2C9 dan pravastatin dimetabolisme dengan cara berbeda. Berdasarkan sifat fisika-kimia, Pravastatin sangat hidrofilik; fluvastatin mempunyai karakteristik intermediat; lovastatin, simvastatin, atorvastatin, dan cerivastatin adalah lipofilik. Statin lipofilik sangat mudah melewati membrane sel sehingga mempengaruhi hepatik dan extrahepatik HMGCoA reduktase. Statin hidrofilik mudah

berpenetrasi ke dalam hepatosit melalui *organic anion transporter*. Berdasarkan aktivitas spesifik, Atorvastatin, cerivastatin, fluvastatin, dan pravastatin diberikan dalam bentuk senyawa aktif (*acid form*). Lovastatin dan simvastatin diberikan dalam bentuk inaktif (*lactone*) dan membutuhkan enzim hidrolisis untuk mengubah menjadi bentuk aktif (3,7).

Mekanisme Kerja Statin

Dislipidemia dan hiperkolesterolemia dikontrol oleh liver. Hepatosit mengambil 50% kolesterol dari sirkulasi. Peningkatan aktivitas reseptor kolesterol di hepatosit merupakan metode untuk menurunkan kadar kolesterol LDL plasma. Statin memiliki target di hepatosit dengan menghambat HMG-CoA reduktase, enzim yang mengkonversi HMG-CoA menjadi asam mevalonat yang merupakan prekursor kolesterol. Statin secara kompetitif terikat pada sisi aktif enzim. Selanjutnya mengubah konformasi dari enzim sehingga mencegah HMG-CoA reduktase untuk menjalankan fungsinya secara normal. Perubahan konformasi pada sisi aktif enzim membuat obat sangat efektif dan spesifik. Ikatan statin dengan HMGCoA reduktase bersifat *reversible*. Penghambatan HMG-CoA reduktase menghasilkan penurunan kolesterol intraseluler, menginduksi aktivasi *sterol regulatory element binding proteins* (SREBPs) dari retikulum endoplasma. Aktivasi SREBPs dapat meningkatkan ekspresi gen reseptor LDL. Penurunan kolesterol hepatosit dapat meningkatkan *hepatic LDL receptors* sehingga dapat menurunkan kadar LDL di sirkulasi dan prekursor LDL (*intermediate density* - IDL dan *very low density*- VLDL *lipoproteins*). (1,8)

Miotoksisitas terkait statin

Kolesterol adalah komponen dasar membran sel, berkontribusi terhadap stabilitas membran sel tersebut. Penurunan kolesterol oleh statin menghasilkan perubahan pada fluiditas membran dan modifikasi kerentanan membran otot. Perubahan membran dapat memodulasi fungsi saluran natrium, kalium, dan klorida, yang kemudian dapat merusak miosit dan menyebabkan miopati.(9-11)

Statin juga menghambat farnesyl pirofosfat dan geranylgeranyl pirofosfat, zat antara jalur mevalonat, yang terlibat dalam modifikasi protein

pasca-translasi seperti GTPase kecil dan lamin. GTPase dan lamin memainkan peran penting dalam pemeliharaan sel dan organisasi kromatin. Disprenilasi dari GTP-ase kecil telah terbukti menyebabkan degenerasi serat otot dan apoptosis, sedangkan disprenilasi lamin dapat menyebabkan membran nukleus yang rapuh dan menginduksi apoptosis sel otot (12).

Dolichol, zat antara lain dari jalur mevalonate, mempromosikan protein N-glikosilasi. Penghambatan produksi dolichol oleh statin merusak ekspresi reseptor dan produksi protein struktural, yang juga dapat menyebabkan miopati.(12). Pengobatan pra-adiposit dengan 10 nmol / L cerivastatin mengakibatkan gangguan produksi protein struktural dan reseptor dengan akumulasi proreseptor dan apoptosis setelah paparan yang lama, menunjukkan gangguan N-glikosilasi, sebagai mekanisme yang mendasari kerusakan sel (12).

Statin juga telah dikaitkan dengan peningkatan ekspresi atrogin-1, gen yang terkait dengan atrofi otot. Ekspresi atrogin-1 terjadi lebih awal selama perkembangan atrofi otot, dan peningkatannya mendahului hilangnya massa otot. Dari catatan, pasien dengan miopati terkait statin menunjukkan peningkatan kadar mRNA atrogin-1 pada biopsi otot paha depan (13).

Selanjutnya, gangguan pensinyalan kalsium juga dapat berkontribusi pada miopati yang diinduksi statin. Statin dapat menginduksi depolarisasi mitokondria dan pelepasan kalsium yang menghasilkan gelombang kalsium sitoplasma dengan pelepasan kalsium yang selanjutnya oleh retikulum sarkoplasma sebagai mekanisme yang memungkinkan aktivasi caspase dan induksi apoptosis (14).

Mekanisme Pro-Oksidan Statin

Mitokondria merupakan organ tempat produksi ATP melalui proses transpor elektron yang terjadi di kompleks I (NADH: *ubiquinone oxidoreductase*) atau kompleks II (*succinate: ubiquinone oxidoreductase*) setelah pelepasan elektron dari NADH atau FADH₂. Elektron ditransfer sepanjang rantai respirasi untuk menghasilkan H₂O di kompleks IV (*cytochrome c oxidase*). Secara bersamaan, protons (H⁺) dibentuk dan dipompa masuk ke *intermembrane space*. Selama respirasi, elektron terlepas dari

kompleks I dan III (*cytochrome bcl complex*) ke dalam matrix mitokondria dan bereaksi dengan O₂ menghasilkan superoksida (O₂⁻). Sekitar 75% O₂⁻ di mitokondria dihasilkan dari proses transfer elektron mulai dari ubiquinol sampai pada *cytochrome c* yang dikatalisis oleh kompleks III. Penghambatan respirasi mitokondria mulai pada kompleks I akan meningkatkan pelepasan elektron dan pembentukan O₂⁻. Dengan adanya *superoxide dismutase* (SOD), O₂⁻ diubah menjadi H₂O₂ dan selanjutnya direduksi menjadi H₂O oleh *catalase* (CAT) dan *glutathione peroxidase* (GPx). H₂O₂ juga keluar dari mitokondria masuk ke dalam sarkoplasma dan mengaktifkan *redox-dependent signalling* atau menyebabkan stress oksidatif(1,15-17).

Secara normal sel mempunyai mekanisme pertahanan terhadap kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas, meliputi *antioxidants nonenzymes* (asam askorbat, vitamin E, dan glutation) dan *antioxidant enzymes* (*thioredoxins, superoxide dismutase (SOD), catalase, and glutathione peroxidase*). Namun, peningkatan produksi ROS melebihi sistem pertahanan antioksidan menyebabkan terjadinya stress oksidatif atau kerusakan seluler.(18,19).

Inhibisi Sintesis Ubiquinon

Dampak mitokondria pada miopati yang diinduksi statin awalnya berasal dari temuan CoQ10 yang lebih rendah dalam sirkulasi dan otot rangka pasien yang diobati dengan statin dan rasio laktat / piruvat yang lebih tinggi, sebagai indikator fungsi mitokondria abnormal (1).

CoQ10 adalah transporter elektron dasar dari rantai pernapasan mitokondria dan produk akhir dari jalur mevalonate. CoQ10 terdiri dari cincin benzoat yang dihasilkan dari tirosin dan poliisopren yang disintesis dari farnesilpirofosfat. Pada manusia CoQ10 mengandung 10 unit isopren, sementara 2-7% dari total adalah CoQ9 yang terdiri dari 9 unit isoprene. Pada rodent bentuk predominan adalah coenzyme Q9 tetapi 10-30% merupakan CoQ10. *Coenzyme Q* tereduksi membentuk ubiquinol atau dioksidasi membentuk ubiquinon. Ubiquinol merupakan antioksidan larut lipid yang melindungi membrane plasma dan lipoprotein plasma dari kerusakan oksidatif. Secara normal >80%

Coenzyme Q di plasma dan jaringan tersedia dalam bentuk oksidasi.(20).

Dalam hal ini, efek penghambatan statin pada jalur mevalonat dapat mengurangi kadar CoQ10 sebesar 16-54% (21). dan menyebabkan disfungsi mitokondria, terungkap dengan penghambatan kompleks ETC mitokondria,70,71 gangguan potensial membran mitokondria, penurunan dalam jumlah salinan DNA mitokondria (mtDNA), gangguan fosforilasi oksidatif, pembengkakan mitokondria, dan pelepasan sitokrom c.(3,22).

Aktivasi iNOS

Oxidative stress merupakan ketidakseimbangan antara jumlah *reactive oxygen species* (ROS) dan antioksidan enzimatis serta non-enzimatis yang berperan dalam patogenesis *atherosclerosis, arterial hypertension, dan heart failure*. Beberapa studi menunjukkan bahwa statin memperbaiki stress oksidatif, tetapi efek prooksidan belum diketahui. *Nitric oxide* (NO) yang diproduksi pada kadar *endothelial NO synthase* (eNOS) yang rendah berperan penting dalam regulasi tonus vascular. Tetapi, NOS isoform yang lain yaitu *inducible NOS* (iNOS) menghasilkan NO dalam jumlah banyak yang akan bereaksi dengan superoxide membentuk *peroxynitrite* (ONOO-). *Peroxynitrite* merupakan radikal bebas yang sangat reaktif dan dapat merusak protein, lipid dan asam nukleat. Beberapa studi menunjukkan bahwa statin menstimulasi eNOS dan juga iNOS (23).

Disfungsi Mitokondria

Disfungsi mitokondria adalah suatu keadaan yang ditandai dengan gangguan biogenesis mitokondria, perubahan potensial membran, penurunan jumlah mitokondria, dan perubahan aktivitas oksidatif protein akibat akumulasi ROS dalam sel dan jaringan. Toksisitas yang diinduksi oleh statin dapat disebabkan oleh menurunnya fosforilasi protein kinase B (Akt) dan selanjutnya menyebabkan gangguan pada jalurnya, yang memainkan peran penting di mitokondria (24,25).

Kesimpulan

Statin menyebabkan disfungsi mitokondria akibat adanya stress oksidatif. Mekanisme terjadinya stress oksidatif akibat statin

disebabkan karena adanya inhibisi dari protein ubiquinon, aktivasi iNOS, penurunan biogenesis mitokondria, pengurangan fosforilasi oksidatif mitokondria.

Referensi

1. De Pinieux G, Chariot P, Ammi-Saïd M, Louarn F, Lejonc JL, Astier A, Jacotot B, Gherardi R. ‘Lipid-lowering drugs and mitochondrial function: Effects of HMG-CoA reductase inhibitors on serum ubiquinone and blood lactate/pyruvate ratio’, *British Journal of Clinical Pharmacology*, 1996. 42(3), pp. 333-337. doi: 10.1046/j.1365-2125.1996.04178.x.
2. Takemoto M, Node K, Nakagami H, Liao Y, Grimm M, Takemoto Y, Kitakaze M, Liao JK. ‘Statins as antioxidant therapy for preventing cardiac myocyte hypertrophy’, *Journal of Clinical Investigation*, 2001. 108(10), pp. 1429-1437. doi: 10.1172/JCI113350.
3. Harrison TN. ‘Trends in Statin Use 2009-2015 in a Large Integrated Health System: Pre- and Post-2013 ACC/AHA Guideline on Treatment of Blood Cholesterol’, *Cardiovascular Drugs and Therapy*. Cardiovascular Drugs and Therapy, 2018. 32(4), pp. 397-404. doi: 10.1007/s10557-018-6810-1.
4. Silverman MG, Ference BA, Im K, Wiviott SD, Giugliano RP, Grundy SM, Braunwald E, Sabatine MS. ‘Association between lowering LDL-C and cardiovascular risk reduction among different therapeutic interventions: A systematic review and meta-analysis’, *Journal of the American Medical Association*, 2016. 316(12), pp. 1289-1297. doi: 10.1001/jama.2016.13985.
5. Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, Beam C, Birtcher KK, Blumenthal RS, Braun LT, de Ferranti S, Faiella-Tommasino J, et al. 2018AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task

- Force on Clinical Practice Guidelines', *Journal of the American College of Cardiology*. American College of Cardiology Foundation, 2019. 73(24), pp. 3168-3209. doi: 10.1016/j.jacc.2018.11.002.
6. Schachter M. 'Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins: An update', *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 2005. 19(1), pp. 117-125. doi: 10.1111/j.1472-8206.2004.00299.x.
 7. Crespo M. J. 'Simvastatin, atorvastatin, and pravastatin equally improve the hemodynamic status of diabetic rats', *World Journal of Diabetes*, 2015. 6(10), p. 1168. doi: 10.4239/wjd.v6.i10.1168.
 8. Jasińska M, Owczarek J, Orszulak-Michalak D. 'Statins: A new insight into their mechanisms of action and consequent pleiotropic effects', *Pharmacological Reports*, 2007. 59(5), pp. 483-499.
 9. Baker, S. K. 'Molecular clues into the pathogenesis of statin-mediated muscle toxicity', *Muscle and Nerve*, 2005. 31(5), pp. 572-580. doi: 10.1002/mus.20291.
 10. Kaufmann, P. 'Toxicity of statins on rat skeletal muscle mitochondria', *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2006. 63(19-20), pp. 2415-2425. doi: 10.1007/s00018-006-6235-z.
 11. Sirvent P, Mercier J. and Lacampagne A. 'New insights into mechanisms of statin-associated myotoxicity', *Current Opinion in Pharmacology*, 2008. 8(3), pp. 333-338. doi: 10.1016/j.coph.2007.12.010.
 12. Vaklavas C, Chatzizisis YS, Ziakas A, Zamboulis C, Giannoglou GD. 'Molecular basis of statin-associated myopathy', *Atherosclerosis*, 2009. 202(1), pp. 18-28. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.05.021.
 13. Cao P, Hanai J, Tanksale P, Imamura S, Sukhatme VP, Lecker SH. 'Statin - induced muscle damage and atrogen - 1 induction is the result of a geranylgeranylation defect', *The FASEB Journal*, 2009. 23(9), pp. 2844-2854. doi: 10.1096/fj.08-128843.
 14. Sirvent P, Mercier J, Vassort G, Lacampagne A. 'Simvastatin triggers mitochondria-induced Ca²⁺ signaling alteration in skeletal muscle', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2005. 329(3), pp. 1067-1075. doi: 10.1016/j.bbrc.2005.02.070.
 15. Handy DE, Loscalzo J. 'Redox regulation of mitochondrial function', *Antioxidants and Redox Signaling*, 2012. 16(11), pp. 1323-1367. doi: 10.1089/ars.2011.4123.
 16. Görlach A, Dimova EY, Petry A, Martínez-Ruiz A, Hernansanz-Agustín P, Rolo AP, Palmeira CM, Kietzmann T. 'Reactive oxygen species, nutrition, hypoxia and diseases: Problems solved?', *Redox Biology*. Elsevier, 2015. 6, pp. 372-385. doi: 10.1016/j.redox.2015.08.016.
 17. Lee J, Choi J, Selen Alpergin ES, Zhao L, Hartung T, Scafidi S, Riddle RC, Wolfgang MJ. 'Loss of Hepatic Mitochondrial Long-Chain Fatty Acid Oxidation Confers Resistance to Diet-Induced Obesity and Glucose Intolerance', *Cell Reports*. Elsevier Company, 2017. 20(3), pp. 655-667. doi: 10.1016/j.celrep.2017.06.080.
 18. Block G, Dietrich M, Norkus EP, Morrow JD, Hudes M, Caan B, Packer L. 'Factors associated with oxidative stress in human populations', *American Journal of Epidemiology*, 2002. 156(3), pp. 274-285. doi: 10.1093/aje/kwf029.
 19. Di Meo S, Reed TT, Venditti P, Victor VM. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. doi: 10.1155/2016/1245049.
 20. Beltowski J, Wojcicka G, Jamroz-Wisniewska A. 'Adverse Effects of Statins - Mechanisms and Consequences', *Current Drug Safety*, 2009. 4(3), pp. 209-228. doi: 10.2174/157488609789006949.
 21. Marcoff L, Thompson PD. The role of co-enzyme Q10 in statin - associated myopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:2231-2237

22. Päivä H, Thelen KM, Van Coster R, Smet J, De Paepe B, Mattila KM, et al. High - dose statins and skeletal muscle metabolism in humans: a randomized, controlled trial. *Clin Pharmacol Ther.* 2005;78:60-68.
23. Wolin MS, Ahmad M, Gupte SA. (2005) 'The sources of oxidative stress in the vessel wall', in *Kidney International*. Blackwell Publishing Inc., pp. 1659-1661. doi: 10.1111/j.1523-1755.2005.00257.x.
24. Mullen PJ, Zahno A, Lindinger P, Maseneni S, Felser A, Krähenbühl S, et al. Susceptibility to simvastatin - induced toxicity is partly determined by mitochondrial respiration and phosphorylation state of Akt. *Biochim Biophys Acta - MolCell Res.* 2011;1813:2079-2087.84.
25. Bonifacio A, Sanvee GM, Bouitbir J, Krähenbühl S. The AKT/mTOR signaling pathway plays a key role in statin - induced myotoxicity. *Biochim Biophys Acta - MolCell Res.* 2015;1853:1841-1849

Brine Shrimp Lethality Test on Aqueous Extract of *Caesalpinia Sappan* L.

Nathasya Angelia Satya^{1*}, Dhigna Luthfiyani Citra Pradana^{2*},
Abdul Kolib², Citra Ayu Aprilia²

Artikel Penelitian

- ¹ Medical Faculty, Universitas
Pembangunan Nasional
Veteran Jakarta
² Pharmacology and Clinical
Pharmacy Department,
Medical Faculty, Universitas
Pembangunan Nasional
Veteran Jakarta

Abstract: *Caesalpinia sappan* L. is a plant in the Fabaceae family and has long been used as a medicinal plant. The wood of this plant contains active compounds including brazilin, flavonoids, tannins, alkaloids, saponins, and terpenoids, which have antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial, antiviral, and anticancer properties. The purpose of this study was to find out the lethal concentration (LC_{50}) in the aqueous extract of *C. sappan* wood using the brine shrimp lethality test (BSLT). LC_{50} is the concentration value of the compound that causes up to 50% death in larvae of *Artemia salina*. This study used four concentration treatments of 1000 ppm, 500 ppm, 100 ppm, and 50 ppm, and negative control repeated three times. Each concentration and the control negative used 10 *Artemia salina* larvae. The larval mortality was observed after 24 hours of treatment. An LC_{50} value of 322.54 ppm indicates an aqueous extract of *C. sappan*. Therefore, it was moderately toxic in this category.

Keywords: *Caesalpinia sappan* extract, BSLT, *Artemia salina*, toxicity, LC_{50}

Abstrak: *Caesalpinia sappan* L. merupakan tanaman dari famili Fabaceae dan telah lama digunakan sebagai tanaman obat. Kayu tanaman ini mengandung brazilin, flavonoid, tannin, alkaloid, saponin dan terpenoid yang mana memiliki aktivitas antioksidan, anti-inflamasi, antibakteri, antivirus dan antikanker. Tujuan Penelitian ini adalah untuk mengetahui *lethal concentration* (LC_{50}) ekstrak air dari kayu *C. sappan* menggunakan metode brine shrimp lethality test (BSLT). LC_{50} adalah harga konsentrasi suatu senyawa dimana menyebabkan 50% kematian larva *Artemia salina*. Pada Penelitian ini konsentrasi pengujian dilakukan dengan konsentrasi 1000 ppm, 500 ppm, 100 ppm, and 50 ppm dan control negatif. Sebanyak 10 larva digunakan untuk masing-masing konsentrasi sampel dan kontrol negatif. Mortalitas larva dihitung setelah 24 jam perlakuan. Harga LC_{50} yang diperoleh yaitu 322,54 ppm yang mana ini menunjukkan bahwa ekstrak air *C. sappan* termasuk kategori tingkat toksisitas sedang.

Korespondensi:

Dhigna Luthfiyani Citra Pradana
dhignaluthfiyani@upnvj.ac.id

Kata Kunci: extract *Caesalpinia sappan*, BSLT, *Artemia salina*, toksisitas, LC_{50}

Introduction

Caesalpinia sappan L. is one type of plant that grows in Indonesia and is often used for wood. *C.sappan* L. is a plant from the Fabaceae family, commonly known as Sappan wood. The wood part of the *C.sappan* L. is often used as a traditional drink because it has many health benefits (1). Many compounds in this wood, such as phenolics, saponins, flavonoids, tannins, and others, function as antioxidants, antiviral, antibacterial, anti-fungal, anti-inflammatory, and anticancer (2).

One method to determine the level of toxicity of compounds in plant extracts can be done using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method, which uses *Artemia salina* Leach larvae as the bioindicators (3). Toxicity is a term in toxicology that means the ability of a compound to cause damage or injury. This toxicity depends on the amount of the toxic compound that is absorbed (4). In the BSLT method, observations on the number of deaths that occurred in larvae were observed after being given plant extracts incubated for 1x24 hours. After getting the number of deaths from the larvae, the LC_{50} (Lethal Concentration) value was calculated, making the concentration of compounds in the plant extract causing death in the larvae of 50% of the population (5)(6).

There have been many studies using *Caesalpinia sappan* L. wood, and it was reported that *C.sappan* L. wood has potential as an antioxidant, but there has been no research showing the safety of an aqueous extract of *Caesalpinia sappan* L. by knowing the LC_{50} value from this extract. Therefore, the safety of the aqueous extract concentration of *C. sappan* wood using the BSLT method was carried out as an initial study by knowing the LC_{50} value as an initial screening for the bioactivity of compounds from this extract.

Material and Methods

1. Plant Materials

C. sappan L. plants used in this study were obtained from Bantul, Jogjakarta, Indonesia, and determined beforehand at the Herbarium Bogoriense, Research and Development Center for Botany, Research and Development Center for

Biology, LIPI Bogor for authentication. *C. sappan* plants determined is then sorted for parts of the wood, weighed as much as 1 kg, then dried and ground into a fine powder using a grinder.

The *C. sappan* plants wood powder was extracted using the maceration method. First, the powder was put into a maceration vessel and then soaked for three days using distilled water. At this immersion stage, stirring is carried out once a day so that the water permeates the entire surface of the powder and the concentration is evenly distributed. Next, the dregs from the powder were taken and soaked again in water to be macerated again using water solvent until the *C. sappan* wood solution was close to clear. Finally, the filtrate was collected and concentrated at a temperature of 45°C using a rotary evaporator to produce an aqueous extract of *C. sappan* wood. The thick extract of *C. sappan* wood was obtained after the extract was put into a vaporizer cup and placed in an oven at 45°C.

2. Brine Shrimp Lethality Test

Before the brine shrimp lethality test was carried out, the hatching of the larvae of *Artemia salina*, the test animal in this study, was carried out first in a plastic container previously divided into dark and light sections using styrofoam as a barrier. At the bottom edge of the styrofoam, a hole is made so that the larvae hatched out of the hole on the bottom edge of the styrofoam. Next, seawater is filled into the container until the hole in the styrofoam is submerged. Next, the dark part is covered by aluminium foil where 1 gram of *A. salina* Leach egg is inserted. Finally, the bright part of the container is illuminated in fluorescent lamps to stimulate hatching. After 24 hours, the eggs will hatch and form larvae and then be transferred to another container until the larvae are 48 hours old.

Preparation of the concentration of the extract to be tested was carried out after hatching *A. salina* larvae. First, the thick extract of *C. sappan* wood was weighed using an analytical balance until 4 grams. The extract was then put into an Erlenmeyer flask and then dissolved in 2 mL of DMSO and reacted with 98 mL of distilled water to reach a volume of 100 mL. Next, the solution was stirred using a hot plate stirrer until smooth, and a standard solution concentration of 4000

ppm was obtained. The standard solution was then diluted to obtain the desired concentration of the test solution.

The standard solution was first diluted to 2000 ppm. After that, each microplate was filled with a micropipette containing 1 mL of the test solution and a micropipette containing 1 mL of seawater to a final volume of 2 mL. The concentration in the microplate was halved to be 1000 ppm and 500 ppm because 1 mL of seawater was added. This study also made a solution that was diluted to 200 ppm, and then each microplate was filled with a micropipette containing 1 mL of the test solution and a micropipette containing 1 mL of seawater to a final volume of 2 mL. The concentration in the microplate was halved to be 100 ppm and 50 ppm because 1 mL of seawater was added. Ten larvae of *A. salina* were inserted in each microplate using a dropper. The negative control contained ten larvae of *A. salina* and 2 mL of seawater. This experiment was repeated three times to get accurate data. The number of dead larvae was counted on each microplate after the microplate was placed outside for 24 hours. Calculations were carried out by observing the larvae in a microplate. Observe the larvae with the help of a light and a magnifying glass. The larvae of *Artemia salina* Leach died when the larvae had no movement for a few seconds of observation.

3. Significance of Brine Shrimp Lethality Test

Toxicity in the compound in *C. sappan* can be tested using the brine shrimp lethality test, which measures toxicity in plant extracts on its bioindicator, *A. salina* larvae (3). The level of trust in 95% caused the brine shrimp lethality test to separate toxic substances in plant extracts as initial stages (7)(8).

The brine shrimp lethality test requires a small amount of test material and is done quickly (5). This method is widely used because compounds with certain biological activities often have toxic properties to *Artemia salina* Leach larvae. Therefore, as an initial test that does not take long and uncomplicated time, the brine shrimp lethality test can be done to determine a compound's biological activity *in vitro*. The larvae used as their bioindicators will be incubated for 1x24 hours after being given plant extracts that will be tested for toxicity. The LC₅₀ (lethal

concentration) value is calculated from the brine shrimp lethality test. LC₅₀ is a large concentration of compounds or extracts that can turn off animal tests up to 50% (9)(10). The LC₅₀ value is classified according to the Meyer or Clarkson toxicity category (9). Classification of LC₅₀ values according to the Meyer and Clarkson toxicity category is shown in **Table 1** and **Table 2** below:

Table 1. LC₅₀ value according to the Meyer toxicity category

Meyer Toxicity Category	
LC ₅₀ Value	Category
LC ₅₀ < 1000 ppm	Toxic
LC ₅₀ > 1000 ppm	Non-toxic

Table 2. LC₅₀ value according to the Clarkson toxicity category

Clarkson Toxicity Category	
LC ₅₀ Value	Category
LC ₅₀ 0-100 ppm	Highly Toxic
LC ₅₀ 100-500 ppm	Medium Toxic
LC ₅₀ 500-1000 ppm	Low Toxic
LC ₅₀ > 1000 ppm	Non-toxic

A. salina larvae were used in the brine shrimp lethality test because compounds in plant extracts could be detected using these animals. In addition, the toxicity test on these animals also showed a correlation with anticancer activity. The National Cancer Institute (NCI) in the United States has proven a significant correlation between testing using *Artemia* and inhibition of tumour cell growth in humans *in vitro* to be used as a pre-screening test for anticancer drug research (11). After 24 hours, the survival rate of Nauplii was calculated, and the mortality percentage was determined using the equation:

$$\text{Percentage of deaths} = \frac{\text{Number of dead larvae}}{\text{Total Number of larvae}} \times 100\%$$

After obtaining the percentage of mortality from *Artemia salina* Leach larvae, the LC₅₀ value was calculated using the probit analysis method on SPSS 25.0.

Result

Prior to the brine shrimp lethality test, the standard solution of this extract was diluted so that the concentrations of the test solutions of 1000 ppm, 500 ppm, 100 ppm, and 50 ppm were obtained. In addition to testing the diluted solution, negative controls were also tested to determine if there was an influence from seawater or other factors other than the extract tested on 48-hour-old *A. salina* larvae.

In this study, the negative control and each concentration were given 10 *Artemia salina* Leach larvae. Brine shrimp lethality test was performed three times, and each concentration was repeated three times (triple) to obtain accurate data. Counting the number of dead larvae with *C. sappan* wood extract was started after 24 hours of intervention.

Table 3 shows that the effect of giving each concentration of aqueous extract of *C. sappan*

wood was different in each group of *Artemia salina* Leach larvae. Based on **Table 3**, it can be seen that the most significant number of larval deaths was at a concentration of 1000 ppm, while the smallest number of deaths was found at a concentration of 50 ppm. An increase in the number of larval deaths coincided with an increase in the concentration of the tested extracts. In addition, mortality in larvae was not found in the negative control, so it can be concluded that mortality was only affected by the concentration of this extract.

The calculation of the LC₅₀ value was carried out after obtaining the percentage value of mortality from larvae. The concentration of this extract influenced the mortality of larvae. The LC₅₀ value was calculated using the SPSS 25.0 probit analysis method. Calculation of the LC₅₀ value using the SPSS application to avoid human error. The results obtained using the SPSS 25.0 probit analysis method were 322.54 ppm. This value indicates that the concentration of aqueous extract of *C. sappan* wood at 322.54 ppm can kill *A. salina* larvae up to 50% of the population.

Table 3. Effect of each concentration of aqueous extract of *C. sappan* wood on *Artemia salina* larvae

Microplate	<i>Artemia salina</i> Leach Larvae Mortality Rate				Negative Control
	Concentration (ppm)				
	1000	500	100	50	
1	10	5	6	3	0
2	8	7	7	2	0
3	8	6	1	2	0
Average	8,7	6	4,7	2,3	0
Mortality Percentage (%)	87%	60%	47%	23%	0

According to the study of (8), the LC₅₀ value is classified according to the Meyer or Clarkson toxicity category. So, it is categorized as medium toxic according to the Clarkson toxicity category because the LC₅₀ value in this extract is between 100-500 ppm and the toxic category according to

the Meyer toxicity category. After all, the LC₅₀ value is <1000 ppm.

Discussion

Research on the brine shrimp lethality test on *C. sappan* wood extract has also been carried out previously by (11). The solvent used by (12) was

methanol. In the study conducted by (11), the concentrations tested were ten ppm, 100 ppm, and 1000 ppm. In addition, tests on negative controls that functioned to determine other influences outside the test extract that caused the larvae to die were also carried out. The percentage value of larval mortality showed that the highest number of deaths was at a concentration of 1000 ppm, while the lowest number of deaths was at a concentration of 10 ppm, and in the negative control test, there was no larval death at all. The LC_{50} value in this study was calculated using the probit analysis method, and it was found that the LC_{50} value in the methanol extract of *C. sappan* wood was 493.04 ppm.

The difference in the LC_{50} value between the brine shrimp lethality test on *C. sappan* wood extract conducted by (12) and the research conducted by the author could occur due to the influence of biological factors such as differences in the location where the *C. sappan* plant grows, chemical factors such as different quality and quantity of active compounds, and also differences in solvents used (11). For example, the research conducted by (12) used the *C. sappan* plant from Sambas, West Kalimantan, while for the study conducted by the author, the same type of plant was obtained from Bantul, Jogjakarta. Differences in where *C. sappan* grows can cause differences in soil quality, weather, and humidity. In addition, in the research conducted by the author, the solvent used was water, while the solvent used in the research of (11) was methanol. The methanol solvent causes the active compound drawn to be different from the water solvent.

Conclusion

The LC_{50} value of the brine shrimp lethality test on the aqueous extract of *C. sappan* L. wood using the probit analysis method is 322.542 ppm. According to the Clarkson category, the aqueous extract of *C. sappan* wood is included in the moderately toxic category because the LC_{50} value in the aqueous extract of *C. sappan* wood is between 100-500 ppm.

Therefore, for further research, it is advisable to continue with the acute toxicity test in vivo, subchronic toxicity test, and chronic toxicity test

of the aqueous extract of *C. sappan* wood to determine the value of LD_{50} (lethal dose).

References

1. Harijono H, Mualimin L, Estiasih T, Wulan S, Pramita H. Potensi Minuman Fungsional Wedang Uwuh sebagai Kontrol Berat Badan dan Kontrol Kadar Glukosa Darah. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2021;9(3):155-164.
2. Nomer N, Duniaji A, Nocianitri K. Kandungan Senyawa Flavonoid dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) serta Aktivitas Antibakteri terhadap *Vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*. 2019;8(2):216.
3. Veni T, Pushpanathan T. Comparison of the *Artemia salina* and *Artemia franciscana* bioassays for toxicity of Indian medicinal plants. *Journal of Coastal Life Medicine*. 2014;2(6):453-457.
4. Mustapa M, Tuloli T, Moodoto A. Uji Toksisitas Akut Yang Diukur Dengan Penentuan Ld_{50} Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* L.) Terhadap Mencit (*Mus Musculus*) Menggunakan Metode Thompson-Weil. *Frontiers: Jurnal Sains Dan Teknologi*. 2018;1.
5. Liunokas A, Bana J, Amalo D. Pengaruh Pemberian Ekstrak Pinang (*Areca Catechu* L.) Terhadap Kesintasan Telur Keong Mas (*Pomacea Canaliculata* Lamarck). *Jurnal Biologi Tropis*. 2019;19(2):294.
6. Ogbole OO, Ndabai NC, Akinleye TE, Attah AF. Evaluation of peptide-rich root extracts of *Calliandria portoricensis* (Jacq.) Benth (Mimosaceae) for in vitro antimicrobial activity and brine shrimp lethality. *BMC Complement Med Ther*. 2020;20(1):1-7.
7. Barua N, Ibn Aziz MA, Tareq AM, Sayeed MA, Alam N, Alam N ul, et al. In vivo and in vitro evaluation of pharmacological activities of *Adenia trilobata* (Roxb.). *Biochem Biophys Reports [Internet]*. 2020;23(December 2019):100772. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2020.100772>

8. Marzuki A, Rahman L, Mamada SS. Toxicity test of stem bark extract of banyuru (*Pterospermum celebicum* miq.) using BSLT (brine shrimp lethality test) and cream irritation test. *J Phys Conf Ser.* 2019;1341(7).
9. Soliha R, Fitriyaningsih S, Hazar S. Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Kuli Buat Petai (*Parkia Speciosa* Hassk.) dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Prosiding Farmasi*, 2019:566–573.
10. Azizah N, Heryanto R, Kusuma W. Profil Kimia dan Toksisitas Jamu Berpotensi Antidiabetes yang Diformulasi dengan Metode Statistika dan Machine Learning. *Jurnal Jamu Indonesia.* 2018;3(1):32-45.
11. Mshelia E, Watirahyel E, Maigari A, Yohana C, Ismail F. Cytotoxicity And Antioxidant Activity Of Stem Bark Extracts Of *Azanza garckeana* (kola of Tula). *European Journal of Pure and Applied Chemistry*, 2016;3(2):16-24.
12. Anderson L, May D, Berkompas C, Doyle B. Toxicity of Mid-Michigan plant extracts in the brine shrimp lethality assay and the effect of assay methodology on sensitivity. *BIOS.* 2018;89(2):45.
13. Sufiana, Harlia. Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Secara Topikal Efektif pada Kepadatan Kolagen Masa Penyembuhan Luka Insisi Tikus Putih. *Jurnal Medik Veteriner.* 2019;2(2):119.
14. Sufardi. *Pengantar Nutrisi Tanaman.* 2nd ed. Syiah Kuala University Press; 2019.

Optimasi Penggunaan Antimikroba bagi Pasien Sepsis Berdasarkan Karakteristik Farmakokinetik dan Farmakodinamik Obat: Sebuah Tinjauan Literatur

Yovita Diane Titiesari^{1,2*}, Fany Febriani²

Artikel Review

Abstract: Sepsis is one of a leading cause of death globally, and appropriate antimicrobial therapy is prominent to improve survival rate of septic patient. The pathophysiology of sepsis alongside with the use of therapeutic intervention such as renal replacement therapy could alter pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of certain antimicrobials, thus will lead to subtherapeutic dose and treatment failure. This literature review will study the pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of antimicrobials and its changes in septic patient and to apply this knowledge to optimise the dose of commonly used agents such as beta-lactams, vancomycin, aminoglycoside, fluoroquinolones, tigecycline, and antifungals, to improve patient's safety.

Keywords: Sepsis, antimicrobials, pharmacokinetic, pharmacodynamic

¹ Departemen Farmasi Rumah Sakit Khusus Kanker MRCCC Siloam Semanggi Jakarta

² Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Pelita Harapan Tangerang

Korespondensi:

Yovita Diane Titiesari
yovita.titiesari@gmail.com

Abstrak: Sepsis adalah salah satu penyebab kematian tertinggi di dunia, dan terapi antimikroba yang sesuai adalah salah satu kunci untuk meningkatkan keselamatan pasien sepsis. Patofisiologi sepsis dan penggunaan intervensi terapeutik seperti *renal replacement therapy* akan menyebabkan perubahan farmakokinetik dan farmakodinamik antimikroba pada pasien sepsis, yang dapat menyebabkan kondisi subterapeutik dan kegagalan terapi. Tinjauan literatur ini akan melihat aspek farmakokinetik dan farmakodinamik antimikroba serta perubahan aspek-aspek tersebut pada pasien sepsis dan mengaplikasikan pengetahuan ini untuk optimasi dosis antimikroba yang sering digunakan pada kondisi sepsis seperti beta-laktam, vankomisin, aminoglikosida, fluorokuinolon, tigesiklin, dan antijamur, untuk meningkatkan keselamatan pasien.

Kata kunci: Sepsis, antimikroba, farmakokinetik, farmakodinamik

Pendahuluan

Sepsis merupakan suatu kondisi mengancam jiwa saat organ-organ vital tubuh mengalami kegagalan kerja sebagai akibat dari respon tubuh terhadap infeksi (1). Bagian dari sepsis yang melibatkan abnormalitas yang lebih intens pada sistem sirkulasi darah, selular, dan metabolisme disebut dengan syok sepsis (1). *World Health Organization* (WHO) mencatat 49 juta kasus sepsis di seluruh dunia pada tahun 2017, dengan angka kematian sekitar 11 juta kasus, sekitar 20 persen penyebab kematian secara global (1).

Mengingat sifatnya yang mengancam jiwa, diperlukan suatu penanganan yang cepat dan tepat bagi pasien sepsis untuk meningkatkan keselamatan pasien (2). *Surviving Sepsis Campaign*, suatu panduan penanganan pasien sepsis yang digunakan secara global, menyebutkan sejumlah aspek yang perlu diperhatikan dalam penanganan pasien sepsis, antara lain resusitasi cairan, pemberian terapi antimikroba, dan pengendalian sumber infeksi (2).

Antimikroba adalah salah satu terapi yang penting dalam menurunkan mortalitas pasien sepsis, dimana antimikroba harus diberikan secara cepat dan tepat (2,3). *Surviving Sepsis Campaign* merekomendasikan antimikroba diberikan dalam jangka waktu satu jam sejak diagnosis sepsis ditegakkan, dimana setiap jam penundaan pemberian antimikroba pada pasien syok sepsis akan menurunkan keberlangsungan hidup pasien sebesar 7,6% (2,4). Sementara itu, ketepatan pemberian ditentukan dari kesesuaian pemilihan antimikroba serta dosis yang digunakan (2,3). Dosis yang terlalu tinggi berpotensi menimbulkan toksisitas bagi organ, sebaliknya dosis yang terlalu rendah akan menyebabkan kegagalan terapi dan resistensi antimikroba (3).

Ketepatan pemberian dosis antimikroba pada pasien sepsis adalah sesuatu yang cukup menantang dan harus memperhatikan faktor farmakokinetik (PK) dan farmakodinamik (PD) dari masing-masing obat (2,3).

Farmakokinetik dari suatu antimikroba berkaitan dengan proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan eliminasi antimikroba tersebut di dalam tubuh dan menggambarkan perubahan

konsentrasi obat dalam tubuh dari waktu ke waktu (3,5,6). Sementara itu, farmakodinamik (PD) berbicara tentang korelasi dari konsentrasi antimikroba dalam tubuh terhadap efek yang ditimbulkan (3,6).

Profil PK/PD antimikroba pada pasien sepsis berbeda dengan pada pasien tanpa sepsis (3,5,7). Perubahan profil PK antimikroba pada pasien sepsis berkaitan antara lain dengan peningkatan volume distribusi (V_d) dan perubahan bersihan obat di ginjal karena adanya kerusakan jaringan endotelial di pembuluh darah yang menyebabkan 'kebocoran' kapiler (*capillary leak*), pemberian resusitasi cairan, kondisi hipoalbuminemia, dan penggunaan alat seperti *renal replacement therapy* (RRT) (3,8). Perubahan profil PK ini akan mengubah juga profil PD dari antimikroba dan dengan demikian berpengaruh pada efek obat dalam mengatasi infeksi pada sepsis (3,5,8). Sekelompok peneliti dari 10 negara di Eropa dan Australia yang tergabung dalam *Defining Antibiotic Level in Intensive Care* (DALI) Study Group melakukan sebuah studi multinasional pada 361 pasien. Pasien dalam studi ini adalah pasien dewasa dengan diagnosis infeksi yang dirawat di unit rawat intensif dan menggunakan antibiotik golongan beta-laktam. Hasil pengukuran kadar obat dalam darah memperlihatkan bahwa 16% pasien dalam studi ini tidak memiliki target farmakodinamik yang diinginkan dari antimikroba beta-laktam yang diberikan (9).

Oleh karena itu, diperlukan suatu pemahaman mengenai perubahan PK/PD pada pasien sepsis dan bagaimana perubahan tersebut akan berpengaruh pada pemilihan dosis antimikroba yang tepat bagi pasien sepsis. Tinjauan literatur ini akan membahas mengenai prinsip PK/PD dalam terapi antimikroba, perubahan PK/PD antimikroba pada pasien sepsis, serta penggunaan profil PK/PD dalam menentukan dosis beberapa agen antimikroba yang tepat dan sesuai untuk pasien sepsis.

Farmakokinetik dan Farmakodinamik Antimikroba Pada Pasien Sepsis

Proses PK yang dialami oleh suatu obat dalam tubuh didahului dengan proses absorpsi di saluran cerna apabila obat tersebut diberikan secara per oral. Pada pasien sepsis, absorpsi di

saluran cerna mengalami perubahan dikarenakan tubuh akan memprioritaskan aliran darah ke organ-organ vital, dan dengan demikian aliran darah ke saluran cerna menjadi berkurang dan dapat menurunkan laju absorpsi obat ke aliran darah sistemik (5-7). Oleh karena itu, pemberian antimikroba secara intravena lebih disarankan pada pasien sepsis dibandingkan pemberian per oral (6,7).

Proses selanjutnya adalah distribusi obat yang dinyatakan dalam volume distribusi dan bersihan (*clearance*) dari tubuh, yang tidak terlepas dari sifat hidrofilisitas dan lipofilisitas masing-masing antimikroba (3,7). Volume distribusi dari antimikroba pada pasien sepsis cenderung meningkat dibandingkan pada pasien tanpa sepsis (5,8). Hal ini disebabkan karena a) terjadinya kerusakan pada sel-sel endotelial pembuluh darah yang menyebabkan kebocoran pembuluh darah kapiler, b) terapi resusitasi cairan yang diterima pasien, c) kondisi hipoalbuminemia yang lazim terjadi pada pasien sepsis, d) penggunaan sirkuit ekstrakorporeal seperti *renal replacement therapy*, dan e) kondisi patologis lain yang menyertai seperti adanya

asites atau efusi pleura (3,7,8,10). Distribusi akan diikuti oleh proses metabolisme dan eliminasi antimikroba dari tubuh. **Tabel 1** menunjukkan klasifikasi antimikroba berdasarkan sifat hidrofilisitas, volume distribusi, dan bersihan serta perubahan yang terjadi pada pasien dengan sepsis.

Peningkatan volume distribusi pada pasien sepsis akan membuat konsentrasi dalam plasma lebih cepat menurun bagi antimikroba yang bersifat hidrofilik (3,7,11). Pasien sepsis juga sering menggunakan *renal replacement therapy* (RRT) seperti hemodialisis (HD) atau *continuous renal replacement therapy* (CRRT) dimana penggunaan terapi ekstrakorporeal seperti ini dapat meningkatkan bersihan antimikroba hidrofilik dari dalam tubuh (7,11). Peningkatan laju bersihan antimikroba dari tubuh dapat berpotensi menurunkan konsentrasi yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini terutama lebih sering terjadi pada antimikroba dengan bobot molekul yang kecil dan memiliki afinitas pengikatan protein yang rendah seperti antibiotik golongan beta-laktam (3,7,11).

Tabel 1. Karakteristik antimikroba berdasarkan sifat hidrofilisitas dan lipofilisitas (3,6,8,10)

Klasifikasi	Contoh	Karakteristik PK	Perubahan PK pada Pasien Sepsis
Antimikroba hidrofilik	<ul style="list-style-type: none"> • Antibiotik beta-laktam (golongan karbapenem, golongan sefalosporin) • Antibiotik aminoglikosida (amikasin, gentamisin) • Glikopeptida (vankomisin) • Antijamur flukonazol 	<ul style="list-style-type: none"> • Volume distribusi relatif kecil, sehingga obat cenderung berada dalam plasma • Mayoritas bersihan melalui ginjal 	<ul style="list-style-type: none"> • Volume distribusi meningkat • Bersihan dapat meningkat atau menurun, bergantung fungsi ginjal pasien
Antimikroba lipofilik	<ul style="list-style-type: none"> • Fluorokuinolon (siprofloksasin, levofloksasin, moksifloksasin) • Tigesiklin • Makrolida (azitromisin, klaritromisin) • Metronidazole • Linezolid • Antijamur vorikonazol 	<ul style="list-style-type: none"> • Volume distribusi besar, sehingga obat dapat berpenetrasi ke intraseluler dan jaringan adiposa • Mayoritas bersihan melalui hati 	<ul style="list-style-type: none"> • Tidak ada perubahan volume distribusi • Bersihan dapat meningkat atau menurun, bergantung fungsi hati pasien

Kondisi hipoalbuminemia pada pasien sepsis dapat pula berkontribusi pada perubahan profil PK antimikroba, terutama yang memiliki afinitas pengikatan protein yang tinggi seperti seftriakson (8,12). Karena kurangnya kadar albumin dalam darah, maka obat akan lebih banyak berada dalam bentuk bebas dan dengan demikian akan mempercepat waktu paruh eliminasinya dari dalam tubuh (8). Seftriakson memiliki angka pengikatan protein hingga 80 hingga 95%, oleh sebab itu pemberian seftriakson pada pasien hipoalbuminemia umumnya membutuhkan dosis awal sebesar 2 gram diikuti dengan dosis lanjutan 1 gram setiap 8 jam untuk mencegah terjadinya subdosis (12).

Dari sisi PD antimikroba dapat diklasifikasikan menjadi *time-dependent*, *concentration dependent*, dan *concentration and time dependent* (3,8,10,13).

Efek dari antimikroba yang bersifat *time-dependent* seperti antibiotik golongan beta-laktam akan bergantung dari persentase waktu kumulatif dalam jangka waktu 24 jam dimana konsentrasi antimikroba tersebut di dalam serum berada di atas konsentrasi penghambatan minimal (*minimum inhibitory concentration/MIC*) ($f T_{>MIC}$) (14). Oleh karena itu, efikasi tidaklah bergantung dari pemberian dosis yang meningkatkan konsentrasi di atas MIC, namun lebih kepada penggunaan interval dosis yang lebih sering dan dengan waktu pemberian yang panjang (3,13,14).

Antimikroba *concentration-dependent* seperti golongan aminoglikosida memiliki profil farmakodinamik yang dipengaruhi oleh konsentrasi maksimal di dalam darah proporsional terhadap MIC (C_{max}/MIC) (14). Dengan demikian jumlah obat yang diberikan per dosis pemberian menjadi kunci efikasi (3,10).

Sementara itu antimikroba yang memiliki profil farmakodinamik *concentration and time dependent* seperti golongan fluorokuinolon, tigesiklin, linezolid, serta antijamur golongan azol dan echinocandin efikasinya akan ditentukan oleh area under the curve (AUC) antimikroba dalam bentuk bebas (*free drug*) selama periode 24 jam proporsional terhadap MIC (AUC_{0-24}/MIC) (3,13,14).

Strategi Optimasi Dosis Antimikroba Pada Pasien Sepsis

Perubahan PK antimikroba akibat kondisi sepsis yang dialami pasien dapat menyebabkan dosis yang diberikan tidak cukup untuk melawan bakteri penyebab infeksi. Penggunaan dosis standar dapat menyebabkan kondisi subterapeutik dan dapat meningkatkan risiko kegagalan terapi dan peningkatan efek samping obat (7,8,15). Optimasi dosis antimikroba pada pasien sepsis dapat dilakukan melalui pertimbangan aspek PD dari antimikroba terkait, serta perubahan sifat PK yang dialami masing-masing obat pada kondisi sepsis (8).

Beta-laktam. Antibiotik golongan beta-laktam, terutama yang memiliki spektrum kerja luas seperti meropenem, imipenem-silastatin, dan piperasilin-tazobaktam, adalah salah satu golongan obat yang banyak digunakan sebagai terapi empiris pada pasien sepsis (2). Antibiotik beta-laktam bersifat hidrofilik, sehingga volume distribusinya akan meningkat pada pasien sepsis, dan dengan demikian akan berpotensi menyebabkan terjadinya penurunan konsentrasi obat dalam darah (3). Selain itu, antibiotik beta-laktam termasuk ke dalam antibiotik *time-dependent* yang efikasi klinisnya bergantung kepada lamanya obat berada dalam MIC ($f T_{>MIC}$) (14). Oleh karena itu, strategi yang dapat digunakan untuk optimasi dosis beta laktam pada pasien sepsis antara lain pemberian infus dengan durasi yang panjang (*extended or prolonged infusion*) serta pemberian dosis pendahuluan (*loading dose*) (3,7,11).

Secara teoritis, pemberian beta-laktam sebagai antibiotik *time-dependent* dalam durasi yang panjang bertujuan menjaga agar kadar antibiotik dalam darah akan selalu berada dalam MIC (10). Namun pada praktik klinis sehari-hari, hal ini bukanlah sesuatu yang mudah untuk dilakukan misalnya karena keterbatasan akses intravena yang dimiliki pasien sedangkan ada banyak obat yang harus diberikan. Sebuah tinjauan sistematis dan meta analisis pada 22 penelitian acak terkendali (*randomized controlled trial/RCT*) yang dilakukan oleh Roberts dan kawan-kawan pada tahun 2019 mencoba melihat signifikansi klinis dari sisi angka mortalitas pada pemberian beta-laktam secara *prolonged infusion* (durasi pemberian infus minimal 3 jam)

dibandingkan dengan infus intermiten (durasi pemberian infus maksimal 60 menit) pada pasien dengan sepsis. Pemberian beta-laktam dengan durasi infus panjang memberikan angka mortalitas 30% lebih rendah dibandingkan jika infus diberikan secara intermiten, terutama pada pemberian karbapenem dan piperasilin-tazobactam (16). Meskipun demikian, pemberian beta-laktam secara *prolonged infusion* patut memperhatikan beberapa hal praktis seperti stabilitas obat setelah pencampuran, inkompatibilitas obat dengan obat lain yang diberikan bersamaan, serta risiko tertinggalnya obat di selang infus (17). Sebagai contoh, sediaan injeksi meropenem yang memiliki izin edar di Indonesia memiliki waktu guna (*beyond use date*) larutan yang berbeda-beda setelah direkonstitusi atau dilarutkan. Sediaan meropenem dengan merk tertentu dapat memiliki waktu guna 8 jam pada suhu 22-25°C setelah dilarutkan sehingga infus dapat diberikan dalam durasi lebih panjang dari 3 jam. Namun sediaan meropenem dengan merk lain hanya memiliki waktu guna 1 jam setelah pelarutan pada suhu yang sama dan menyebabkan pemberian infus selama 3 jam tidak mungkin dilakukan. Adapun untuk menghindari tertinggalnya obat di selang infus, harus dilakukan pembilasan (*flushing*) selang infus setelah selesai pemberian obat (17).

Penggunaan dosis pendahuluan pada pemberian beta-laktam juga dapat menjadi salah satu strategi optimasi efek obat. Pemberian dosis standar karbapenem pada pasien kritis menunjukkan target terapi 100% $f_{T>MIC}$ hanya tercapai pada 66,9% pasien (18). Pemberian dosis pendahuluan pada 24 hingga 48 jam pertama pemberian beta-laktam diharapkan dapat mencapai target 100% $f_{T>MIC}$ (18). Dosis pendahuluan yang dapat dipertimbangkan adalah 1 gram setiap 8 jam untuk meropenem, 4,5 gram tiap 6 jam untuk piperasilin-tazobactam, dan 2 gram tiap 8 jam untuk seftazidim dan sefepime (18). Dalam praktik klinis, kondisi sepsis sering disertai adanya *acute kidney injury* (AKI) dan menyebabkan keengganan klinisi untuk memberikan dosis standar ataupun dosis pendahuluan yang dikhawatirkan dapat memberikan efek toksik bagi ginjal. Namun pada 24 hingga 48 jam pertama, risiko infeksi tidak teratasi akibat adanya subdosis antibiotik diduga lebih besar dibandingkan dengan risiko toksisitas

obat bagi ginjal (14). Pemberian dosis pendahuluan pada 24 hingga 48 jam pertama tanpa memperhatikan fungsi ginjal tetap disarankan untuk dilakukan untuk mencegah subdosis, dimana setelah waktu tersebut kemudian dosis lanjutan dapat diberikan sesuai dengan fungsi ginjal pasien (3,14,18).

Vankomisin. Vankomisin adalah salah satu antibiotik pilihan pada kasus infeksi, termasuk sepsis, yang disebabkan oleh bakteri Gram-positif. Salah satu perhatian pada penggunaan vankomisin adalah efek samping nefrotoksik. Pemberian vankomisin secara infus berkelanjutan (*continuous infusion*) memberikan efek nefrotoksik yang lebih rendah jika dibandingkan pemberian secara infus intermiten (19,20). Administrasi obat tetap harus memperhatikan aspek kompatibilitas, dimana vankomisin memiliki data inkompatibilitas jika diberikan bersama dengan piperasilin-tazobactam dan imipenem. Untuk semakin meningkatkan keamanan dan meminimalkan efek nefrotoksik, pemberian vankomisin juga disarankan dipandu dengan pemantauan kadar obat dalam darah (19).

Aminoglikosida. Antibiotik golongan aminoglikosida seperti amikasin dan gentamisin bersifat hidrofilik dengan profil PD *concentration-dependent* (15). Optimasi dosis pada pasien dengan sepsis dapat dilakukan melalui interval dosis yang diperpanjang, misalnya *once daily dosing* dengan tujuan mencapai konsentrasi awal yang tinggi (3,10,21). Dari sisi profil efek samping, pemberian *once daily dosing* juga dapat menurunkan efek samping nefrotoksitas pada penggunaan amikasin karena mempersingkat kontak antara obat dengan korteks ginjal (10).

Fluorokuinolon. Antibiotik golongan fluorokuinolon, contohnya siprofloksasin, levofloksasin, dan moksifloksasin bersifat lipofilik dengan penetrasi yang baik ke organ seperti paru-paru, kulit, dan tulang (3). Sifat lipofilik ini membuat volume distribusi fluorokuinolon hampir tidak mengalami perubahan pada pasien sepsis (3). Antibiotik golongan ini bersifat *concentration-dependent*, sehingga penggunaan dosis yang optimal menjadi salah satu kunci keberhasilan terapi (10). Penelitian farmakokinetik observasional yang dilakukan oleh Roberts dan kawan-kawan pada

pasien dewasa dengan syok sepsis di Copenhagen, Denmark (n= 49) yang menggunakan siprofloksasin tunggal maupun kombinasi dengan dosis 800 mg per hari (400 mg diberikan setiap 12 jam) menunjukkan AUC/MIC yang tidak mencapai target terutama untuk infeksi yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* (22). Dosis siprofloksasin yang lebih besar, misalnya 1200 mg per hari (400 mg diberikan setiap 8 jam atau 600 mg diberikan setiap 12 jam) dapat dipertimbangkan pada infeksi *Pseudomonas aeruginosa*, namun dengan tetap memperhatikan risiko terjadinya efek samping pada pasien (22).

Tigesiklin. Tigesiklin adalah antibiotik turunan tetrasiklin yang memiliki spektrum kerja terhadap bakteri *multi-drug resistant* (MDR) seperti *Acinetobacter* dan *Klebsiella*, namun tidak aktif dalam melawan *Pseudomonas aeruginosa* (23). Faktor PK yang penting dari tigesiklin adalah rasio AUC/MIC (24). Sebuah studi retrospektif yang dilakukan pada pasien yang dirawat di suatu unit rawat intensif pada periode Juni 2009 hingga Mei 2012 membandingkan efek pemberian tigesiklin dosis standar (dosis awal 100 mg dilanjutkan dosis lanjutan 50 mg setiap 12 jam) dibandingkan dosis tinggi (dosis awal 200 mg dilanjutkan dosis lanjutan 100 mg setiap 12 jam). Hasilnya, pada pasien dengan *ventilator-associated pneumonia* (VAP) akibat infeksi *Klebsiella* atau *Acinetobacter* didapatkan penggunaan dosis tinggi tigesiklin memberikan efek eradikasi mikroba dan perbaikan kondisi klinis yang lebih baik (24). Namun perlu diperhatikan bahwa tidak ada perbedaan dari segi mortalitas pasien, dan tigesiklin pada penelitian tersebut tidak diberikan monoterapi, melainkan dikombinasikan dengan antibiotik lain seperti kolistin, gentamisin, atau amikasin.

Anti jamur. Anti jamur golongan *echinocandin* seperti mikafungin dan anidulafungin memiliki profil farmakokinetik yang tidak terpengaruh oleh fungsi ginjal (3). Pemberian anidulafungin memerlukan dosis pendahuluan, sedangkan mikafungin tidak membutuhkan dosis pendahuluan. Sebuah studi dengan jumlah populasi kecil (n=31) yang dilakukan di suatu rumah sakit di Spanyol menunjukkan mikafungin dalam dosis 150 mg per hari, lebih besar dari dosis lazimnya yaitu 100

mg per hari, mungkin diperlukan untuk mengatasi infeksi jamur *Candida albicans* dan *Candida glabrata* pada pasien sakit kritis dengan obesitas (25).

Vorikonazol memiliki sifat lipofilik yang menyebabkan profil farmakokinetiknya tidak mengalami perubahan yang berarti pada pasien sepsis (3). Sementara itu, flukonazol bersifat hidrofilik dan biasanya memerlukan dosis pendahuluan untuk mencapai target AUC/MIC, misalnya 12 mg per kilogram bobot badan yang diikuti dosis pemeliharaan sebesar 6 mg per kilogram bobot badan (3).

Strategi lain yang dapat digunakan untuk optimasi dosis penggunaan antimikroba pada pasien sepsis adalah melalui pengukuran kadar obat dalam darah (*therapeutic drug monitoring/TDM*) (26). Melalui pengukuran secara langsung terhadap kadar antimikroba yang ada dalam serum, dapat dilakukan prediksi dosis yang akan diberikan dengan tujuan mencapai target AUC atau MIC dengan minimalisasi efek samping (26). Pengambilan keputusan mengenai dosis antimikroba yang akan diberikan juga dapat dibantu oleh *artificial intelligence* (AI) seperti *software* untuk *model-informed precision dosing* (MPID) yang menggunakan algoritma matematis dan statistik dari data kondisi klinis pasien dan kadar obat dalam serum pasien secara individual (27). Pada ketiadaan TDM dan MPID, aplikasi pengetahuan tentang PK/PD antimikroba pada pasien sepsis adalah cara terbaik untuk optimasi dosis antimikroba.

Kesimpulan

Profil PK/PD antimikroba yang digunakan pada pasien sepsis akan mengalami perubahan baik karena kondisi patofisiologis yang dialami ataupun adanya intervensi terapeutic seperti penggunaan *renal replacement therapy*. Dosis antimikroba yang diberikan pada pasien sepsis harus memperhatikan perubahan ini untuk mencegah subdosis dan kegagalan terapi, dimana dosis dapat bervariasi pada masing-masing individu pasien sesuai kondisi klinis. Aplikasi pengetahuan tentang perubahan PK/PD pada pasien sepsis dari masing-masing antimikroba dapat digunakan untuk mencapai target pengobatan, meningkatkan kesuksesan

pengobatan, dan dengan demikian akan meningkatkan tingkat keselamatan bagi pasien sepsis. Peningkatan akses kepada pengukuran kadar obat dalam darah serta *artificial intelligence* diharapkan dapat semakin meningkatkan optimasi dosis antimikroba pada pasien sepsis.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Unit dan segenap tim *Critical Care Unit* RS Khusus Kanker Siloam Semanggi Jakarta atas pengalaman klinis yang sangat berharga dan membantu dalam penyusunan tinjauan literatur ini.

Referensi

- World Health Organization (WHO). Global report on the epidemiology and burden of sepsis: current evidence, identifying gaps and future directions [Internet]. Global report on the epidemiology and burden of sepsis: current evidence, identifying gaps and future directions. 2020. 56 p. Available from: <http://apps.who.int/bookorders.%0Ahttps://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/334216/9789240010789-eng.pdf>
- Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. Vol. 45, Critical Care Medicine. 2017. 486–552 p.
- Fujii M, Karumai T, Yamamoto R, Kobayashi E, Ogawa K, Tounai M, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations in antimicrobial therapy for sepsis. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2020;16(5):415–30.
- Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock*. 2006;34(6):1589–96.
- Roberts DJ, Hall RI. Drug absorption , distribution , metabolism and excretion considerations in critically ill adults. 2013;1067–84.
- Smith BS, Yogaratnam D, Levasseur-franklin KE, Forni A. Introduction to Drug Pharmacokinetics in the Critically Ill Patient. 2012;1327–36.
- Phe K, Heil EL, Tam VH. Optimizing pharmacokinetics-pharmacodynamics of antimicrobial management in patients with sepsis: A review. *J Infect Dis*. 2021;222(Suppl 2):S132–41.
- Blot SI, Pea F, Lipman J. The effect of pathophysiology on pharmacokinetics in the critically ill patient — Concepts appraised by the example of antimicrobial agents ☆. 2014;77:3–11.
- Roberts JA, Paul SK, Akova M, Bassetti M, De Waele JJ, Dimopoulos G, et al. DALI: defining antibiotic levels in intensive care unit patients: are current β -lactam antibiotic doses sufficient for critically ill patients? *Clin Infect Dis an Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2014 Apr;58(8):1072–83.
- McKenzie C. Antibiotic dosing in critical illness. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2011 Apr 1;66(suppl_2):ii25–31. Available from: <https://doi.org/10.1093/jac/dkq516>
- Timsit JF, Bassetti M, Cremer O, Daikos G, de Waele J, Kallil A, et al. Rationalizing antimicrobial therapy in the ICU: a narrative review. *Intensive Care Med*. 2019;45(2):172–89.
- Ulldemolins M, Roberts JA, Rello J, Paterson DL, Lipman J. The Effects of Hypoalbuminaemia on Optimizing Antibacterial Dosing in Critically Ill Patients. 2011;50(2):99–110.
- Heffernan AJ, Sime FB, Taccone FS, Roberts JA. How to optimize antibiotic pharmacokinetic/pharmacodynamics for Gram-negative infections in critically ill patients. *Curr Opin Infect Dis*. 2018;31(6):555–65.
- Blot S, Lipman J, Roberts DM, Roberts JA. The influence of acute kidney injury on antimicrobial dosing in critically ill patients : are dose reductions always necessary ? *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2014;79(1):77–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2>

- 014.01.015
15. Roberts JA, Lipman J. Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient. 2009;37(3).
 16. Vardakas KZ, Voulgaris GL, Maliaros A, Samonis G, Falagas ME. Prolonged versus short-term intravenous infusion of antipseudomonal β -lactams for patients with sepsis: a systematic review and meta-analysis of randomised trials. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2018;18(1):108–20. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30615-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30615-1)
 17. De Waele JJ, Lipman J, Carlier M, Roberts JA. Subtleties in practical application of prolonged infusion of β -lactam antibiotics. *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2015;45(5):461–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.01.007>
 18. Williams P, Beall G, Cotta MO, Roberts JA. Antimicrobial dosing in critical care: A pragmatic adult dosing nomogram. *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2020;55(2). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.10.018>
 19. Chu Y, Luo Y, Quan X, Jiang M, Zhou B. Intermittent vs. continuous vancomycin infusion for gram-positive infections: A systematic review and meta-analysis. *J Infect Public Health* [Internet]. 2020;13(4):591–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2019.09.001>
 20. Cataldo MA, Tacconelli E, Grilli E, Pea F, Petrosillo N, Division ID, et al. Continuous versus intermittent infusion of vancomycin for the treatment of Gram-positive infections: systematic review and meta-analysis. 2012;(October 2011):17–24.
 21. Buijk SE, Mouton JW, Gyssens IC, Verbrugh HA, Brunining HA. Experience with a once-daily dosing program of aminoglycosides in critically ill patients. *Intensive Care Med.* 2002;28:936–42.
 22. Roberts JA, Alobaid AS, Wallis SC, Perner A, Lipman J, Sjövall F. Defining optimal dosing of ciprofloxacin in patients with septic shock. *J Antimicrob Chemother.* 2019;74(6):1662–9.
 23. Sbrana F, Malacarne P, Viaggi B, Costanzo S, Leonetti P, Leonildi A, et al. Carbapenem-Sparing Antibiotic Regimens for Infections Caused by *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase – Producing *K. pneumoniae* in Intensive Care Unit. 2013;56:697–700.
 24. De Pascale G, Montini L, Pennisi MA, Bernini V, Maviglia R, Bello G, et al. High dose tigecycline in critically ill patients with severe infections due to multidrug-resistant bacteria. *Crit Care.* 2014;18(3).
 25. Maseda E, Grau S, Luque S, Suárez-de-la-rica A, Montero-feijoo A, Salgado P, et al. Population pharmacokinetics / pharmacodynamics of micafungin against *Candida* species in obese, critically ill, and morbidly obese critically ill patients. 2019;(2018):1–9.
 26. Roberts JA, Abdul-Aziz MH, Lipman J, Mouton JW, Vinks AA, Felton TW, et al. Individualised antibiotic dosing for patients who are critically ill: challenges and potential solutions. *Lancet Infect Dis.* 2014 Jun;14(6):498–509.
 27. Kantasiripitak W, Daele R Van, Gijzen M, Ferrante M, Spriet I, Dreesen E. Software Tools for Model-Informed Precision Dosing: How Well Do They Satisfy the Needs? Search Strategy and Selection Criteria. 2020;11(May).

Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*

Tiya Fitriani¹, Siti Nashihah^{1*}

Artikel Penelitian

Abstract: Currently there are many anti-acne preparations on the market but not a few of these drugs give side effects to the user. The need for alternatives from nature that can act as antibacterial in the treatment of acne that has a smaller risk of side effects. This study aims to determine the inhibition of ethanol extract of rambai leaves (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) against acne-causing bacteria *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis*. Extraction was carried out by the UAE method and a yield of 9.21% was obtained. Phytochemical screening obtained positive results containing flavonoids, triterpenoids, tannins, saponins and phenol compounds. Antibacterial activity test was conducted using the well diffusion method with 4 different concentrations of 15%, 25%, 50% and 75% with positive control of clindamycin 0.03% and negative control of DMSO 1%. The results of antibacterial activity testing on *Propionibacterium acnes* bacteria obtained inhibition zone diameters of 3.3 mm; 4.43 mm; 6.48 mm; and 8.45 mm, respectively, while on *Staphylococcus epidermidis* bacteria 11.08 mm; 12.27 mm; 15.38 mm; and 16.78 mm, respectively. The results of the One Way ANOVA statistical test obtained a significance value of 0.000 ($p < 0.05$) which indicates that the treatment of each group is significantly different.

Keywords: *Sonneratia caseolaris*, ultrasound assisted extraction, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*.

Abstrak: Saat ini telah banyak sediaan antijerawat yang beredar di pasaran namun tidak sedikit dari obat-obat tersebut memberikan efek samping pada pemakainya. Perlunya alternatif dari alam yang dapat berperan sebagai antibakteri dalam pengobatan jerawat yang memiliki resiko efek samping yang lebih kecil. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) terhadap bakteri penyebab jerawat *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. Ekstraksi dilakukan dengan metode UAE dan diperoleh randemen 9,21%. Skrining fitokimia diperoleh hasil positif mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid, tanin, saponin dan fenol. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi sumuran dengan 4 konsentrasi berbeda yaitu 15%, 25%, 50% dan 75% dengan kontrol positif klindamisin 0,03% dan kontrol negatif DMSO 1%. Hasil pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* diperoleh diameter zona hambat berturut-turut 3,3 mm; 4,43 mm; 6,48 mm; dan 8,45 mm, sedangkan pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* berturut-turut 11,08 mm; 12,27 mm; 15,38 mm; dan 16,78 mm. Hasil uji statistik *One Way ANOVA* diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang menandakan perlakuan tiap kelompok berbeda secara signifikan.

¹ Fakultas Farmasi,
Universitas Muhammadiyah
Banjarmasin, Banjarmasin
Kalimantan Selatan

Korespondensi:

Siti Nashihah
siti.nashihah@umbjm.ac.id

Kata kunci: *Sonneratia caseolaris*, ultrasound assisted extraction, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*.

Pendahuluan

Penampilan merupakan salah satu modal terbentuknya kepercayaan diri. Salah satu masalah yang dapat menurunkan kepercayaan diri seseorang adalah jerawat atau sering dikenal dalam ilmu kedokteran sebagai *Acne vulgaris*, terutama jerawat yang muncul pada area sekitar wajah yang dapat mengganggu penampilan seseorang sehingga menyebabkan beban pikiran tersendiri bagi sebagian orang (1).

Jerawat merupakan penyakit kulit yang umum terjadi hampir pada semua orang di seluruh dunia. Studi *Global Burden of Disease* (GBD) melaporkan bahwa jerawat dapat mempengaruhi sekitar 85% orang dewasa dan anak muda berusia sekitar 12-25 tahun (2). Prevalensi *acne vulgaris* di Indonesia menduduki urutan ketiga terbanyak dari seluruh penyakit kulit yang telah dilaporkan oleh Departemen Ilmu kesehatan kulit dan kelamin yang ada diberbagai rumah sakit maupun klinik (3).

Jerawat atau *acne vulgaris* merupakan penyakit kulit kronis dengan kondisi peradangan pada kulit yang dapat mempengaruhi kelenjar pilosebaceous yang ditandai dengan munculnya komedo, pustul dan nodul pada area wajah, bahu, dada, punggung dan lengan bagian atas (4). Peradangan atau inflamasi pada jerawat dapat dipicu karena adanya infeksi bakteri penyebab jerawat seperti *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. Oleh karena itu, pengobatan jerawat dapat dilakukan dengan cara mengobati infeksi atau menurunkan populasi bakteri penyebab jerawat dengan menggunakan suatu senyawa yang dapat berperan sebagai agen antibakteri (5).

Saat ini telah banyak sediaan obat antijerawat yang beredar di pasaran mengandung zat antibiotik sintetik, namun tidak sedikit dari obat tersebut memberikan efek samping pada penggunaannya seperti iritasi, resistensi, kerusakan organ, bahkan imunohipersensitivitas. Oleh sebab itu untuk meminimalisir terjadinya efek samping atau efek yang tidak diinginkan maka diperlukan bahan alternatif alami dari alam yang mampu membantu mengatasi masalah jerawat tersebut (4).

Tumbuhan rambai merupakan salah satu jenis mangrove yang habitatnya sering kali ditemui di

muara sungai dan air laut. Tumbuhan rambai secara empiris di manfaatkan masyarakat Kalimantan Selatan sebagai obat luka. beberapa masyarakat juga memanfaatkan daun rambai untuk ditambahkan pada pembuatan bedak dingin (6).

Tumbuhan rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) diketahui mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik dan tanin yang dapat berperan sebagai antibakteri. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak etanol 96% daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan aktivitas antibakteri tertinggi pada konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat 22,48 mm (7).

Untuk memperoleh senyawa yang terkandung dalam daun rambai yang dapat berperan sebagai antibakteri maka perlu dilakukan proses ekstraksi atau pemisahan. Metode ekstraksi yang umumnya digunakan yaitu metode ekstraksi konvensional seperti maserasi, perkolasi, refluks dan sokhletasi namun metode tersebut memerlukan waktu yang lebih lama dan pelarut yang lebih banyak sehingga memiliki tingkat efisiensi yang rendah (8).

Saat ini telah ditemukan beberapa metode alternatif baru untuk memperoleh senyawa yang terkandung dalam tumbuhan, salah satunya yaitu ekstraksi dengan metode *ultrasound assisted extraction* (8). Metode ekstraksi *ultrasound assisted extraction* (UAE) merupakan metode ekstraksi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik. Beberapa hasil penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstraksi dengan metode *ultrasound assisted extraction* mampu mengekstrak senyawa fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, tannin, polisakarida, protein dan minyak esensial dari berbagai tanaman. Metode ini memiliki kelebihan dibandingkan metode ekstraksi pada umumnya yaitu menghasilkan randemen yang lebih banyak dalam waktu yang singkat (9). Selain itu metode ini juga menggunakan lebih sedikit pelarut dengan menghasilkan ekstrak yang lebih pekat dan zat aktif yang lebih banyak (10).

Beberapa penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak daun rambai telah dilaporkan sebelumnya, namun belum ada pengujian

aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun rambai yang diekstraksi dengan metode *ultrasound assisted extraction* (UAE), oleh karena itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terkait aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) terhadap bakteri penyebab jerawat seperti bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* dengan metode difusi sumuran dan metode ekstraksi *ultrasound assisted extraction* (UAE).

Metode Penelitian

Bahan

Klindamisin Etanol 70% (Merck, German), DMSO, media Nutrient agar, HCl, H₂SO₄, FeCl₃, NaCl, BaCl₂ preaksi mayer, pereaksi wagner, toluen, serbuk magnesium, aquadest, kloroform (Merck, German), bakteri *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Propionibacterium acnes* (ATCC 6919) dan lain-lain.

Alat

Cawan petri (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), labu erlenmeyer (Pyrex), labu ukur (Iwaki), gelas beaker (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), pipet tetes, tip mikropipet, mikro pipet (Stream line), pelubang gabus, pipet ukur, spatula, sendok tanduk, jarum ose, laminar air flow cabinet (Mommert), timbangan digital, inkubator (Mommert), oven (Mommert), autoklaf (American), sonikator (China Biobase ultrasonic cleaner UC-40A), cawan porselin, bunsen, penggaris, penangas air (Maspion) dan beberapa peralatan lainnya.

Pengumpulan sampel

Daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) diperoleh dari tepi sungai di Desa Tabanio, Kecamatan Takisung, Kabupaten Tanah Laut, Kalimantan Selatan. Proses pengumpulan daun rambai dilakukan pada sore hari dengan cara dipetik satu persatu menggunakan tangan. Kriteria daun yang dipilih yaitu daun tua, segar, berwarna hijau, tidak rusak, berasal dari pohon dewasa atau besar (11).

Pembuatan serbuk simplisia

Bahan yang telah dikumpulkan selanjutnya dilakukan sortasi basah untuk memisahkan bagian tumbuhan yang ingin diteliti dari zat pengotor atau bagian tanaman yang tidak sesuai

kriteria seperti rusak, busuk dan lain-lain. Setelah daun dilakukan sortasi basah selanjutnya daun dilakukan pencucian. Pencucian dilakukan sebanyak 2-3 kali dengan menggunakan air bersih yang mengalir untuk menghilangkan zat pengotor seperti debu, serangga dan lainnya. Setelah daun dicuci selanjutnya dilakukan perajangan dengan tujuan untuk memperkecil ukuran daun dalam rangka membantu mempercepat proses pengeringan atau penghalusan. Daun yang telah dirajang selanjutnya dilakukan pengeringan dengan cara di angin-anginkan di dalam ruang ber AC. Daun yang telah kering dilakukan sortasi kering untuk memisahkan zat-zat pengotor yang memungkinkan ada selama proses pengeringan. Selanjutnya daun dihaluskan dengan cara diblender, dan diayak dengan pengayak no 40 mesh (11).

Standarisasi simplisia

Beberapa tahapan yang dilakukan pada proses standarisasi simplisia adalah sebagai berikut:

Uji organoleptis.

Pemeriksaan organoleptis dilakukan dengan cara mengamati bentuk fisik simplisia daun rambai sebagai pengenalan awal menggunakan panca indra meliputi bentuk, warna, rasa dan bau (12).

Uji kadar sari larut air.

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia, dimaserasi dengan 100 ml kloroform (2,5 ml kloroform dalam 1000 ml aquadest) selama 24 jam dalam labu ukur dan digojog berkali-kali selama 6 jam pertama, kemudian didiamkan selama 18 jam. Di saring dan 20 ml filtrat dalam cawan penguap yang sebelumnya telah ditara dan dipanaskan, ekstrak diuapkan di atas penangas air hingga kering, residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap (12).

Uji kadar sari larut etanol.

Sebanyak lebih kurang 5 gram serbuk simplisia dimaserasi dengan 100 ml etanol (95%), dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama lalu dibiarkan selama 18 jam. Ekstrak disaring cepat untuk menghindari penguapan etanol (95%). Sebanyak 20 mL filtrat diuapkan hingga

kering di dalam cawan penguap yang telah ditara dan dipanaskan, residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap (12).

Uji kadar air.

Pemeriksaan kadar air dilakukan dengan cara destilasi toluen. Sebanyak 400 ml toluen dituangkan dengan 8 ml aquades selama 1x24 jam, kemudian dipisahkan dan diambil lapisan toluen. Sebanyak 10 g simplisia dimasukkan ke dalam labu alas bulat yang berisi toluen dan batu didih, lalu lakukan proses destilasi. Setelah destilasi selesai biarkan tabung penerima dalam keadaan dingin hingga suhu kamar. Kemudian pisahkan toluen dan air menggunakan corong pisah, selanjutnya ukur volume air yang diperoleh. Setelah semua air tersuling, dihitung kadar air dalam satuan % v/b (13).

Uji susut pengeringan.

Sebanyak 1 gram simplisia dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Setelah itu dinginkan kemudian timbang, apabila bobot yang diperoleh belum konstan. Ulangi kembali hingga diperoleh bobot yang konstan (14).

Ekstraksi

Ekstraksi menggunakan metode UAE dilakukan dengan cara serbuk simplisia dan pelarut dimasukkan ke dalam erlenmeyer dengan perbandingan 1:4 (b/v) dan ditutup dengan aluminium foil dan beri sedikit lubang pada bagian atas, lalu diletakkan dalam alat sonikator dan diekstraksi selama 30 menit pada suhu 40°C dengan frekuensi gelombang pada 40 KHz. Setelah selesai selanjutnya ekstrak dilakukan penyaringan dengan menggunakan kain flanel. Filtrat yang telah didapat selanjutnya diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental, selanjutnya ditimbang dan dihitung randemen ekstrak yang diperoleh (10).

Skrining fitokimia

Beberapa senyawa yang akan dilakukan skrining fitokimia pada penelitian ini sebagai berikut:

Alkaloid.

Sebanyak 2 gram ekstrak sampel dalam tabung reaksi ditambahkan 5 ml HCl 2N, kemudian panaskan dan dinginkan. Siapkan 2 tabung reaksi dan masing-masing tabung berisi 1 ml larutan. Setiap tabung ditambahkan masing-masing pereaksi mayer dan dragendrof. Pada penambahan reaksi mayer positif alkaloid ditandai dengan endapan putih atau kuning, pereaksi dragendroft ditandai dengan endapan jingga (15).

Flavanoid.

Sebanyak 0,5 g ekstrak sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5ml etanol, lalu panaskan selama kurang lebih 5 menit di atas penangas air dan tambahkan 10 tetes HCl pekat dan 0,2 g serbuk magnesium. Positif flavonoid (flavon, kalkan, dan auron) jika terbentuk warna hitam kemerahan, jingga atau kuning (16).

Triterpenoid.

Sebanyak 0,5g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 2 ml H₂SO₄ pekat, kocok perlahan dan dibiarkan beberapa menit. Positif triterpenoid jika warna menjadi coklat kemerahan (16).

Saponin.

Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi, tambahkan 10 ml air panas, dinginkan kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik. Positif saponin jika terbentuk buih setinggi 1-10 cm selama tidak kurang 10 menit dan jika ditambahkan 1 tetes HCl 2N, buih tidak hilang (15).

Tanin.

Sebanyak 1 gram ekstrak dalam tabung reaksi ditambahkan 10 ml air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian filtrat ditambahkan FeCl₃ 3-4 tetes, positif tanin ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru kehitaman (15).

Fenol.

Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambahkan FeCl₃ 3-4 tetes. Positif fenol jika perubahan warna hitam kebiruan sampai hitam pekat (16).

Sterilisasi alat

Alat yang akan digunakan pada penelitian dicuci terlebih dahulu dengan air bersih yang mengalir kemudian dikeringkan. Alat-alat yang telah dikeringkan, selanjutnya disterilkan terlebih dahulu agar tidak terjadi kontaminasi pada saat pengujian. Alat-alat gelas seperti tabung reaksi, vial, cawan petri dibungkus dalam aluminium foil kemudian disterilkan menggunakan oven pada suhu 170°C selama 1 jam, jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara pemijaran di atas api bunsen. Media dan alat-alat yang berskala atau tidak tahan pemanasan seperti spuit dibungkus dengan aluminium foil dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (17).

Pembuatan media

Sebanyak 28 gram media agar nutrient agar dilarutkan dengan aquadest sebanyak 1000 ml, kemudian dipanaskan hingga homogen dan sesekali dilakukan pengadukan agar media tercampur merata. Selanjutnya media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dinginkan media hingga suhu 45- 50°C. Tuang media ke dalam cawan petri dan tabung reaksi yang telah disterilisasi kurang lebih sebanyak 25 ml pada cawan petri dan tabung reaksi untuk media agar miring sebanyak 5 ml, biarkan hingga memadat (18).

Peremajaan bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan dengan cara mengambil biakan murni bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes* masing-masing satu jarum ose, kemudian digoreskan secara zig-zag dalam biakan agar dengan permukaan miring dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (19).

Pembuatan suspensi bakteri

Ambil 1-2 ose bakteri suspensikan dalam 10 ml larutan NaCl 0,9% (b/v), kemudian kekeruhan disetarakan dengan larutan standar McFarland 0,5. Kekeruhan tersebut menunjukkan jumlah koloni pada suspensi yang akan digunakan (20).

Pembuatan larutan mcfarland 0,5

Larutan standar McFarland 0,5 (1,5x10⁸ CFU/ml) dibuat dengan cara mencampurkan barium klorid (BaCl₂) 1%

sebanyak 0,05 ml dengan asam sulfat (H₂SO₄) 1% sebanyak 9,95 ml dalam tabung reaksi, gojok sampai homogen (21).

Pembuatan kontrol negatif

Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah DMSO 1%, larutan DMSO 1% dibuat dengan cara melarutkan 1 ml DMSO kedalam aquadest hingga diperoleh larutan 100 ml (22).

Pembuatan kontrol positif

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah klindamisin 0,03%, dibuat dengan cara melarutkan serbuk klindamisin 4,6 mg dalam 10 ml larutan DMSO 1% (22).

Pembuatan larutan uji

Larutan uji ekstrak konsentrasi 15% b/v, 25% b/v, 50% b/v, 75% b/v dibuat dengan cara masing-masing konsentrasi berturut-turut ditimbang ekstrak sebanyak 0,75 g; 1,25g; 2,5 g dan 3,75 g. Selanjutnya masing-masing ekstrak dilarutkan dengan pelarut DMSO 1% sampai 5 ml.

Uji aktivitas antibakteri

Suspensi bakteri yang telah dibuat dicelupkan *cotton bud* kemudian diinokulasikan pada media NA secara zig-zag, diamkan beberapa menit agar suspensi terserap ke dalam media. Selanjutnya buat lubang sumuran pada media menggunakan pelobang gabus no 2, jumlah lubang yang dibuat disesuaikan dengan keperluan. Larutan kontrol positif, kontrol negatif dan ekstrak daun rambai yang telah dibuat dengan konsentrasi 15% b/v, 25% b/v, 50% b/v, dan 75% b/v diambil menggunakan mikro pipet masing-masing sebanyak 50 µl, kemudian masing-masing larutan tersebut dimasukkan ke dalam lubang sumuran. Lubang sumuran diberi label sesuai dengan isi larutannya. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C tanpa dibalik. Lakukan pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk disekitar lubang sumuran (23).

Analisis data

Semua data hasil pengukuran diameter zona hambat dari setiap konsentrasi dan kontrol akan dianalisis menggunakan SPSS untuk mengetahui perbedaan tiap diameter zona hambat yang

dihasilkan. Analisis menggunakan data one way ANOVA dan post hoc test dengan tingkat kepercayaan 95%.

Hasil dan Diskusi

Standarisasi simplisia

Standarisasi simplisia merupakan suatu proses untuk menjamin produk akhir yang memenuhi syarat sehingga diperoleh bahan baku simplisia yang seragam dengan menjamin mutu, khasiat dan keamanan dari simplisia tanaman obat (14). Pada penelitian ini untuk memastikan simplisia daun rambai yang dibuat telah memenuhi syarat yang telah ditetapkan maka dilakukan standarisasi simplisia dengan cara melakukan beberapa pengujian seperti uji organoleptis, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar air dan susut pengeringan.

Pada penelitian ini uji organoleptis diperoleh hasil simplisia daun rambai memiliki bentuk berupa serbuk halus berwarna hijau muda

dengan bau khas dan rasa sedikit pahit. Pengujian organoleptis bertujuan untuk memberikan pengenalan awal bagaimana bentuk, rasa, warna, dan bau dari simplisia daun rambai (13). Untuk hasil uji kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar air dan susut pengeringan dapat dilihat pada **Tabel 1**. Untuk hasil kadar sari larut air diperoleh hasil 19% sedangkan uji kadar sari larut etanol diperoleh hasil 21%. Hasil tersebut telah memenuhi syarat yang telah ditetapkan oleh farmakope herbal Indonesia (24), sehingga dapat dikatakan simplisia telah memenuhi syarat uji kadar sari larut air dan uji kadar sari larut etanol (**Tabel 1**).

Pengujian kadar sari larut air bertujuan untuk mengetahui banyaknya kandungan senyawa aktif yang dapat larut dalam pelarut air (polar), sedangkan uji kadar sari larut etanol bertujuan untuk mengetahui kadar senyawa aktif yang dapat larut dalam pelarut etanol (polar-non polar) (13).

Tabel 1. Standarisasi Simplisia

Uji	Hasil	Persyaratan
Kadar Sari Larut Air	19 %	≥5%
Kadar Sari Larut Etanol	21%	≥7,2 %
Kadar Air	8%	<10%
Susut Pengeringan	5%	<10%

Pada hasil tersebut dapat dilihat adanya perbedaan persentase antara kadar sari larut air dan etanol dimana kadar sari larut etanol lebih besar dibandingkan kadar sari larut air, hal tersebut menandakan bahwa senyawa kimia yang terkandung dalam daun rambai lebih banyak terlarut dalam pelarut etanol dibandingkan pelarut air. Hal tersebut juga sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya tentang uji kadar sari larut air dan etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) diperoleh hasil kadar sari larut etanol lebih besar dibandingkan kadar sari larut air (25).

Pengujian kadar air dan susut pengeringan berturut-turut diperoleh hasil 8% dan 5% dimana hasil tersebut <10% sehingga dapat dikatakan bahwa simplisia daun rambai telah memenuhi syarat uji kadar air dan susut pengeringan (**Tabel**

1). Pengujian kadar air dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kandungan air yang terkandung dalam simplisia, karena kandungan air tersebut dapat mempengaruhi stabilitas simplisia selama proses penyimpanan (13). Kadar air yang tidak memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan dapat mengakibatkan adanya pertumbuhan mikroorganisme, hal tersebut terjadi karena air merupakan media untuk pertumbuhan mikroorganisme. Adanya mikroorganisme yang tumbuh akan menyebabkan simplisia cepat membusuk dan tidak stabil selama proses penyimpanan sehingga dapat menurunkan mutu dari simplisia (25).

Pengujian susut pengeringan dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui batasan maksimal atau besarnya rentang senyawa yang hilang selama proses pengeringan (13). Massa

yang dapat hilang selama proses pemanasan yaitu molekul air, minyak atsiri dan pelarut etanol (25).

Ekstraksi

Pada penelitian ini simplisia diekstraksi menggunakan metode ekstraksi *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) menggunakan alat *ultrasonic biobase* dengan model UC-40A. Metode ekstraksi ini memanfaatkan fenomena kavitasi untuk membuat gelembung yang dapat memecah dinding sel tumbuhan sehingga pelarut dapat masuk ke dalam sel dan menarik senyawa yang ingin diekstraksi (26). Simplisia daun rambai pada penelitian ini diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dan diperoleh ekstrak kental sebanyak 46,05 g dengan persentase randemen 9,21%.

Pada penelitian sebelumnya tentang perbandingan metode ekstraksi daun rambai diperoleh hasil randemen ekstraksi dengan metode maserasi, infudasi, soxhletasi dan refluks berturut-turut 21,28%; 17,20%; 28,38% dan 25,57%⁽⁶⁾. Hasil tersebut menunjukkan bahwa metode ekstraksi UAE pada penelitian ini memiliki randemen yang lebih kecil jika dibandingkan metode ekstraksi konvensional. Hal tersebut dapat terjadi dikarenakan beberapa faktor dapat mempengaruhi randemen yang dihasilkan salah satunya penggunaan pelarut yang lebih sedikit, karena menurut penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menyebutkan bahwa volume pelarut dapat berpengaruh terhadap randemen yang dihasilkan dimana semakin banyak pelarut yang digunakan maka semakin tinggi pula randemen yang dihasilkan. Hal tersebut terjadi karena semakin banyak pelarut yang digunakan maka kemampuan pelarut untuk melarutkan zat yang terlarut juga akan semakin besar karena distribusi partikel dalam pelarut semakin menyebar, sehingga memperluas permukaan kontak antara pelarut dan senyawa (27).

Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya tentang pengaruh rasio pelarut pada ekstraksi daun jambu air dan melinjo dengan metode ekstraksi *Ultrasound Assisted Extraction* pada rasio pelarut 1:5, 1:10, 1:15, 1:20, dan 1:25 diperoleh rasio pelarut terbaik yaitu 1:10 dengan menghasilkan randemen yang lebih tinggi dibandingkan rasio

pelarut lainnya⁽⁸⁾. Faktor lain yang juga dapat mempengaruhi randemen yang dihasilkan yaitu tempat tumbuh, karena perbedaan tempat tumbuh dapat mempengaruhi senyawa atau kandungan yang terdapat dalam tumbuhan.

Skrining fitokimia

Pada penelitian ini skrining fitokimia dilakukan bertujuan untuk mengetahui senyawa apa saja yang terkandung dalam ekstrak etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) yang dapat berperan sebagai antibakteri. Berdasarkan data pada **(Tabel 2)** dapat dilihat bahwa ekstrak etanol daun rambai mengandung senyawa flavanoid, fenol, tanin, saponin dan triterpenoid. Senyawa flavonoid diduga memiliki senyawa antibakteri karena kemampuannya dalam membentuk senyawa kompleks dengan protein sehingga membran sel bakteri mengalami kerusakan dan terjadi proses keluarnya makromolekul dan ion dari sel terjadi kematian sel. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ekstrak etanol daun rambai mengandung senyawa flavanoid, fenol, tanin, saponin dan triterpenoid (28). Pada beberapa literatur disebutkan bahwa dalam daun rambai terdapat alkaloid. Perbedaan hasil skrining fitokimia ini dapat terjadi karena lingkungan tempat tumbuh tanaman, perbedaan konsentrasi metabolit sekunder, jenis pelarut yang digunakan serta metode ekstraksi yang dipakai.

Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini dilakukan dengan metode sumuran. Prinsip kerja metode sumuran yaitu terdifusinya senyawa antibakteri ke dalam media padat yang telah diinokulasi bakteri. Diketahui bahwa metode sumuran menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode cakram. Hal tersebut dikarenakan sampel yang dimasukkan ke dalam sumuran membuat proses osmosis dapat terjadi lebih homogen dan efisien sehingga lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri (29). Selain itu metode sumuran menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode cakram terjadi karena tumpukan kertas yang menyusun cakram disk dapat memengaruhi besarnya diameter zona hambat yang dihasilkan. Semakin tinggi tumpukan kertas maka akan semakin kecil

pula diameter zona hambat yang akan dihasilkan. Berbeda dengan metode sumuran yang secara langsung kontak antara bahan senyawa antibakteri dengan media agar yang telah di

inokulasi bakteri, sehingga bahan uji secara langsung dapat terserap dan menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar (30).

Tabel 2. Skrining Fitokimia

Uji Fitokimia	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
Alkaloid	HCl 2N + Mayer	Tidak terbentuk endapan putih	(-)
	HCl 2N+ Dragendorf	Tidak terbentuk endapan jingga	(-)
Flavanoid	Etanol + HCl P + Mg	Hitam kemerahan	(+)
Fenol	FeCl ₃	Hitam pekat	(+)
Tanin	Air panas + FeCl ₃	Hijau kehitaman	(+)
Saponin	Air panas + HCl	Buih setinggi 2 cm tidak kurang 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan HCl	(+)
Triterpenoid	H ₂ SO ₄ P	Coklat kemerahan	(+)

Keterangan: (-) = Negatif (+) = Positif

Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri pada penelitian ini yaitu nutrient agar. Nutrient agar merupakan media pertumbuhan bakteri dengan komposisi ekstrak beef, pepton, dan agar. Ekstrak beef dan pepton yang terkandung dalam media nutrient agar merupakan sumber protein, nitrogen, vitamin serta karbohidrat yang sangat dibutuhkan oleh mikroorganisme sebagai nutrisi bagi bakteri untuk tumbuh dan berkembang (31).

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini dilakukan peremajaan terlebih dahulu. Peremajaan dilakukan dengan tujuan untuk mengaktifasi isolat bakteri dan mengoptimalkan pertumbuhan bakteri (32).

Pada penelitian ini kontrol positif yang digunakan adalah klindamisin. kontrol positif disini berfungsi untuk memberikan gambaran zona hambat yang terbentuk (33). Pemilihan klindamisin sebagai kontrol positif dikarenakan klindamisin merupakan golongan antibiotik yang

paling banyak digunakan dalam pengobatan jerawat jika dibandingkan dengan eritromisin, tetrasiklin dan azitromisin. Sedangkan untuk kontrol negatif digunakan DMSO 1%. kontrol negatif berfungsi sebagai kontrol dari zat uji untuk mengetahui perbandingan diameter zona hambat yang terbentuk dan untuk memastikan bahwa DMSO yang digunakan untuk melarutkan ekstrak tidak memiliki aktivitas antibakteri (22).

Pada (Tabel 3 dan 4) dapat dilihat klindamisin sebagai kontrol positif menghasilkan zona hambat yang paling besar dengan diameter 37,38 mm untuk bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan 25,15 mm untuk bakteri *Propionibacterium acnes*. Klindamisin memberikan zona hambat yang cukup besar pada kedua jenis bakteri dikarenakan klindamisin merupakan antibiotik yang memiliki aktivitas spektrum luas yang efektif menghambat bakteri baik itu bakteri gram positif maupun negatif.

Tabel 3. Hasil uji daya hambat ekstrak etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Mean±SD	Kategori Zona Hambat
	1	2	3		
K(-)	0	0	0	0±0*	Tidak ada
K(+)	37,40	37,55	37,20	37,38±0,17*	Sangat kuat
15%	11,00	11,05	11,20	11,08±0,10*	Kuat
25%	12,20	12,15	12,45	12,27±0,16*	Kuat
50%	15,30	15,20	15,65	15,38±0,23*	Kuat
75%	16,85	16,60	16,90	16,78±0,16*	Kuat

Keterangan: tanda (*) pada setiap kolom menyatakan perbedaan yang signifikan ($P<0,05$)

Tabel 4. Hasil uji daya hambat ekstrak etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Mean±SD	Kategori Zona Hambat
	1	2	3		
K(-)	0	0	0	0±0*	Tidak ada
K(+)	25,75	25,05	24,65	25,15±0,55*	Sangat kuat
15%	3,25	3,45	3,20	3,30±0,13*	Lemah
25%	4,40	4,35	4,55	4,43±0,10*	Lemah
50%	6,30	6,80	6,35	6,48±0,27*	Sedang
75%	8,35	8,60	8,40	8,45±0,13*	Sedang

Keterangan: tanda (*) pada setiap kolom menyatakan perbedaan yang signifikan ($P<0,05$)

Sedangkan untuk kontrol negatif DMSO 1% tidak memberikan zona hambat dikarenakan tidak adanya zona bening yang terbentuk disekitar sumuran baik itu pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* maupun *Propionibacterium acnes*. Hal tersebut membuktikan bahwa DMSO 1% tidak akan mempengaruhi zona hambat yang akan dihasilkan dari konsentrasi ekstrak etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl).

Pada (**Tabel 3**) dapat dilihat hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun rambai terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* diperoleh rata-rata diameter zona hambat pada konsentrasi ekstrak 15%, 25%, 50%, 75% berturut-turut 11,08 mm; 12,27 mm; 15,38 mm dan 16,78 mm. Hasil rata-rata diameter tersebut berkisar pada rentang 10-20 mm sehingga dapat dikategorikan memiliki zona hambat yang kuat. Sedangkan pada (**Tabel 4**) dapat dilihat hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun rambai terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dimana diperoleh rata-rata diameter zona hambat pada

konsentrasi ekstrak 15%, 25%, 50%, 75% berturut-turut 3,30 mm; 4,43 mm; 6,48 mm dan 8,45 mm. Pada uji aktivitas ini pada konsentrasi 15% dan 25% diperoleh diameter dengan rata-rata <5 mm sehingga dikategorikan memiliki zona hambat yang lemah sedangkan konsentrasi 50% dan 75% menghasilkan diameter rata-rata berkisar antara 5-10 mm yang termasuk dalam kategori zona hambat sedang. Rentang konsentrasi ekstrak pada penelitian ini mengacu pada studi pendahuluan yang terlebih dulu dilakukan untuk menentukan konsentrasi minimal dan maksimal pada pengujian aktivitas antibakteri.

Hasil data uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun rambai terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* dilakukan analisis statistik menggunakan IMB SPSS statistic 25. Analisis statistik pertama yang dilakukan yaitu uji normalitas data untuk diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan

Propionibacterium acnes menggunakan data Shapiro-Wilk normality test diperoleh nilai $p > 0,05$, dimana hasil tersebut menunjukkan bahwa zona hambat yang dihasilkan baik itu terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* telah terdistribusi normal.

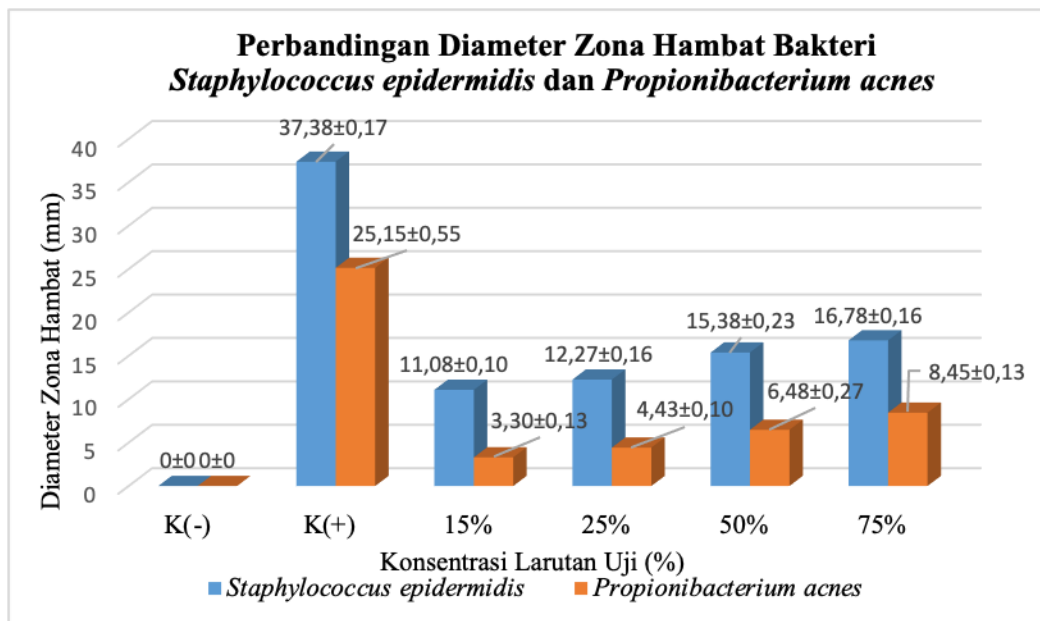
Selanjutnya dilakukan analisis statistik uji homogenitas. Berdasarkan uji homogenitas data yang diperoleh pada pengujian bakteri *Staphylococcus epidermidis* diperoleh signifikansi 0,87 ($p > 0,05$) sehingga data yang dihasilkan homogen sedangkan pada bakteri *Propionibacterium acnes* tidak homogen atau memiliki varian yang tidak sama, karena nilai signifikansi 0,02 ($p < 0,05$) sehingga data yang dihasilkan tidak homogen.

Setelah dilakukan uji homogenitas dan normalitas selanjutnya dilakukan pengujian One Way ANOVA. Dari pengujian One Way ANOVA diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) pada kedua bakteri sehingga hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* dari tiap kelompok uji berbeda secara signifikan.

Pada penelitian ini semua perlakuan berbeda secara signifikan dan bermakna baik itu pada bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* hal tersebut ditunjukkan dengan adanya tanda (*) pada tiap perbandingan perlakuan yang diberikan pada tiap kelompok dapat dilihat pada data *post hoc tests tukey HSD* pada bagian *mean difference*.

Pada (**Gambar 1**) dapat dilihat semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar juga diameter zona hambat yang dihasilkan. Peningkatan diameter zona hambat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak dikarenakan semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin banyak juga senyawa antibakteri yang terkandung di dalamnya (33).

Konsentrasi ekstrak mempengaruhi kecepatan difusi zat antibakteri dimana semakin besar konsentrasi ekstrak, maka semakin cepat pula proses difusi terjadi, akibatnya makin besar daya antibakteri dan diameter zona hambat yang dihasilkan (34). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang telah dilakukan, dimana konsentrasi 75% memiliki diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan konsentrasi 15%, 25% dan 50%.



Gambar 1 Grafik diameter zona hambat ekstrak daun rambai terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jawer kotok dan daun mengkudu dengan menggunakan 2 bakteri yang sama yaitu bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. Pada uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jawer kotok pada konsentrasi 6,25%; 12,5%; 25% dan 50% menghasilkan diameter zona hambat pada bakteri *Propionibacterium acnes* berturut-turut 1,23 mm; 1,36 mm; 1,51 mm dan 1,71 mm dan bakteri *Staphylococcus epidermidis* berturut-turut 1,39 mm; 1,61 mm; 1,77 mm; 2,10 mm (35). Sedangkan ekstrak etanol daun mengkudu konsentrasi 25%; 50%; 75% dan 100% menghasilkan diameter zona hambat pada bakteri *Propionibacterium acnes* berturut-turut 4,7 mm; 6 mm; 8,1 mm dan 11,4 mm dan bakteri *Staphylococcus epidermidis* berturut-turut 5,3 mm; 6,4 mm; 8,6 mm; 12,1 mm (36). Jika dibandingkan dengan ekstrak etanol daun rambai, Pada penelitian ini daya hambat ekstrak etanol daun rambai yang dihasilkan secara tidak langsung lebih besar dibandingkan daya hambat ekstrak etanol daun jawer kotok dan daun mengkudu terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan bakteri *Propionibacterium acnes* karena terdapat perbedaan konsentrasi pada penelitian tersebut. Hal tersebut terjadi kemungkinan dikarenakan perbedaan kandungan metabolit sekunder yang terkandung didalamnya. Ekstrak etanol daun jawer kotok mengandung senyawa metabolit sekunder berupa fenol, flavonoid, terpenoid dan kuinon (35). Sedangkan ekstrak etanol daun mengkudu mengandung senyawa saponin, flavonoid dan tannin (36).

Pada **(Gambar 1)** dapat dilihat bahwa ekstrak etanol daun rambai menghasilkan diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* lebih besar dibandingkan bakteri *Propionibacterium acnes*. Hal yang sama juga terjadi pada ekstrak etanol daun jawer kotok dan daun mengkudu dimana dihasilkan diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus epidermidis* lebih besar dibandingkan bakteri *Propionibacterium acnes*. Hal tersebut terjadi dikarenakan faktor sensitivitas, ketahanan dan respon sel masing-masing bakteri uji terhadap senyawa antibakteri yang terdapat dalam ekstrak berbeda-beda (37). Selain itu diketahui bahwa *Propionibacterium acnes* merupakan bakteri yang

memiliki masa pertumbuhan yang relatif lambat jika dibandingkan dengan bakteri *Staphylococcus epidermidis* sehingga membutuhkan waktu yang lebih lama untuk pertumbuhannya, oleh karena itu untuk memperoleh diameter zona hambat yang lebih besar atau setara maka diperlukan konsentrasi ekstrak yang lebih besar dibandingkan konsentrasi ekstrak untuk bakteri *Staphylococcus epidermidis* (18).

Ekstrak etanol daun rambai dapat dikategorikan memiliki aktivitas antibakteri spektrum luas yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri, baik itu bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif. Ekstrak etanol daun rambai diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E-coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella disenteri*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes* (38). Adanya aktivitas antibakteri yang terdapat pada ekstrak daun rambai disebabkan karena adanya metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol daun rambai berupa senyawa flavonoid, fenol, tanin, triterpenoid, dan saponin. Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol daun rambai diketahui memiliki mekanisme kerja sebagai bakteriostatik terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *propionibacterium acnes* dengan cara mengganggu fungsi dinding sel peptidoglikan dari bakteri yang berfungsi sebagai pelindung dari lisis osmotik sehingga mengakibatkan kematian pada sel bakteri. Flavonoid juga mempunyai efek antibakteri dengan cara merusak membran dan struktur sel dari bakteri (34).

Sedangkan triterpenoid memiliki mekanisme antibakteri dengan cara berikatan dengan protein, karbohidrat dan lipid pada membran sel bakteri yang mengakibatkan menurunnya atau hilangnya permeabilitas dari membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri menjadi lisis atau hancur (39). Mekanisme kerja senyawa aktif saponin sebagai antibakteri yaitu dengan membuat kebocoran protein dan enzim dalam sel bakteri sehingga saponin dapat masuk ke dalam sel melalui lapisan luar dan dinding sel yang rentan dan mengikat membran sitoplasma sehingga terjadi gangguan kestabilan membran sel. Akibatnya terjadi kebocoran sitoplasma dari sel dan menyebabkan kematian sel bakteri (40).

Tanin merupakan salah satu senyawa fenol yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri dengan cara mendenaturasi protein dan menyebabkan turunnya tegangan permukaan, sehingga permeabilitas bakteri meningkat. Kerusakan dan peningkatan permeabilitas dari sel bakteri ini akan membuat pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat dan terjadi kematian sel (40).

Mekanisme antibakteri senyawa fenol yaitu dengan mendenaturasi atau menyebabkan hilangnya protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen ini akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel serta membran sitoplasma. Akibatnya terjadi ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel akibat permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu, hal ini menyebabkan lisisnya sel bakteri. Kandungan senyawa metabolit sekunder tersebut bekerja secara bersinergi dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes* (40).

Kesimpulan

Ekstrak etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) yang diekstraksi dengan metode UAE mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, fenol, tanin, saponin dan triterpenoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* pada konsentrasi 15%, 25%, 50% dan 75% dengan menghasilkan diameter zona hambat berturut-turut pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* 11,08%; 12,27%, 15,38% dan 16,78% sedangkan pada bakteri *Propionibacterium acnes* dihasilkan diameter zona hambat berturut-turut 3,3%; 4,43%; 6,48% dan 8,45%.

Referensi

1. Kristiani SNM, Kapantouw MG, Pandaleke TA. Hubungan Indeks Massa Tubuh dan Angka Kejadian Akne Vulgaris pada Siswa-Siswi di SMA Frater Don Bosco Manado. E-Clinic. 2017;5(2).
2. Febyan, Wetarini K. Acne Vulgaris in Adults: A Brief Review on Diagnosis and Management. International Journal of Research and Review 2020;7(5):5.
3. Wasitaatmadja SM, Arimuko A, Norawati L, Bernadette I, Legiawati L. Pedoman Tata Laksana Akne di Indonesia. Jakarta: Kelompok Studi Dermatologi Indonesia. Ed 2. 2016;2:1-13.
4. Wardani HN. The Potency of Soursop Leaf Extracts for the Treatment of Acne Skin. Jurnal Penelitian Perawat Profesional. 2020;2(4):563-70.
5. Octy SYF, Fissy N, Sari R, Pratiwi L. Effectiveness of Anti Acne Gel Containing Ginger Ethanol Extract (*Zingiber Officinale* Rosc.Var. Rubrum) Against *Propionibacterium Acnes* dan *Staphylococcus Epidermidis*. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2014;12(2):1-9.
6. Wijaya H, Novitasari, Jubaidah S. Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia Caseolaris* L. Engl). Jurnal Ilmiah Manuntung. 2018;4(1):79-83.
7. Sogandi, Anggelia F, Riniwasih L. Antibacterial Activity Test of 96% Ethanol Extract of Rambai Leaf (*Sonneratia Caseolaris*, (L.) Engl) Against *Escherichia Coli* Bacterium. Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal. 2017;2(1):129-33.
8. Buanasari, Febrianto Y, Cholifah, Chakim A. Potensi Metode Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE) dalam Mengekstrak Senyawa Aktif dari Bahan Alam. Jurnal Farmasi & Sains Indonesia. 2019;2(1):106-11.
9. Widyasanti A, Nurlaily N, Wulandari E. Physicochemical Characteristics of Red Dragon Fruit Skin Anthocyanin Extracts Using UAE Method. Jurnal Ilmiah Rekayasa Pertanian dan Biosistem. 2018;6(1):27-38.
10. Andriani M, Permana DGM, Widarta IWR. The Effect of Time and Temperature Extraction on Antioxidant Activity of Starfruit Wuluh Leaf (*Averrhoa bilimbi* L.) Using Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) Method. Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan 2019;8(3):330-40.

11. Linggama GA, Montolalu L, Salindeho N, Taher N, Harikedua SD, Makapedua DM, et al. Aktivitas Antibakteri Air Rebusan Daun Mangrove *Sonneratia Alba*. Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan. 2019;7(3):68.
12. Supomo, Supriningrum R, Junaid R. Characterization and Leaves Phytochemical Screening Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk). Jurnal Kimia Mulawarman. 2016;13(2).
13. Utami YP, Umar AH, Syahrini R, Kadullah I. Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.). Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences. 2017;2(1):32-9.
14. Wijanarko A, Perawati S, Andriani L. Standardisasi Simplisia Daun Ciplukan. Jurnal Farmasetis. 2020;9(1):31-40.
15. Muthmainnah. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) dengan Metode Uji Warna. Media Farmasi. 2017;13(2).
16. Ningsih DS, Henri, Roanisca O, Mahardika RG. Phytochemical Screening and Determination of Total Phenolic Content of Plant Leaf Extracts Sapu-Sapu (*Baekkea rutescens* L.). Journal of Tropical Biology. 2020;8(3).
17. Sarwendah, Yusliana, Laia HCG, Daely PJ, Chiuman L. Uji Daya Hambat Antibakteri Air Perasan Daging Buah Nanas (*Ananas Comosus* (L) Merr) terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes*. Jurnal Biologi Tropis. 2020;20(1):87-93.
18. Nugrahani AW, Gunawan F, Khumaidi A. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kapas (*Gossypium Barbadense* L.) terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. Jurnal Farmasi Udayana. 2020;9(1):52-61.
19. Darsono PV, Fajriannor MTM. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dadangkak (*Hydrolea spinosa*) terhadap Bakteri *Bacillus Subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jurnal Ilmu Ibnu Sina. 2020;5(1):117-27.
20. Saripa J, Hasanuddin S, Isrul M. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Cabai Rawit Spesies *Capsicum Frutescens* Linn Dan *Capsicum Annum* pada *Staphylococcus Aureus*. Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia. 2020;6(2):104-10.
21. Rosmania, Yanti F. Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri. Jurnal Penelitian Sains. 2020;22(2):76-86.
22. Soemarie YB, Apriliana A, Indriastuti M. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Glodokan Tiang (*Polyalthia longifolia* S.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. Jurnal Farmasi Lampung. 2018;7(1).
23. Winastri NLAP, Muliastari H, Hidayati E. Antibacterial Activities of Juice and Decoction of Calincing (*Oxalis corniculata* L.) Leaves Against *Streptococcus mutans*. Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati. 2020;19(2).
24. Anonim. Farmakope Herbal Indonesia. Ed 2. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Direktorat Jendral Kefarmasian dan Alat Kesehatan; 2017.
25. Syamsul ES, Supomo, Jubaidah S. Karakterisasi Simplisia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Pidada Merah (*Sonneratia caseolaris* L.). Jurnal Riset Kimia. 2020;6(3):184-90.
26. Maleta HS, Indrawati R, Limantara L, Hardo T, Brotosudarmo P. Various Carotenoid Extraction Methods from Sources of Plants in Recent Decade. Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan. 2018;13(1).
27. Sasongko A, Nugroho RW, Setiawan CE, Utami IW, Pusfitasari MD. Aplikasi Metode Non Konvensional pada Ekstraksi Bawang Dayak. Jurnal Teknologi Terpadu. 2018;6(1).
28. Jubaidah S, Sundu R, Sabriningsih N. Penetapan Kadar Fenolik Total Fraksi Polar dan Nonpolar Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L.) dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. J Riset Kefarmasian Indonesia. 2019;1(2):140-7.
29. Nurhayati LS, Yahdiyani, Hidayatulloh A. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. J Teknologi Hasil Peternakan. 2020;1(2):41.

30. Sari ZAA, Febriawan R. Perbedaan Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metode Well Diffusion dan Kirby Bauer terhadap Pertumbuhan Bakteri. *J Medika Utama*. 2021;02(04).
31. Fatmariza M. Tingkat Kepadatan Media Nutrient Agar terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Analis Medika BioSains*. 2017;4(2):69-73.
32. Prihanto Aa, Timur HDL, Jaziri AA, Nurdiani R, Pradarameswari KA. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Mangrove *Sonneratia Alba* Penghasil Enzim Gelatinase dari Pantai Sendang Biru, Malang, Jawa Timur. *Indonesian Journal of Halal*. 2018;1(1):31.
33. Alam AN, Bintari SH, Mubarak I. Penentuan Konsentrasi Minimum Ekstrak Daun Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *Journal of Life Science Biology*. 2017;6(1):34-9.
34. Wardani AK, Fitriana Y, Malfadinata S. Uji Aktivitas Antibakteri Penyebab Jerawat *Staphylococcus epidermidis* Menggunakan Ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*). *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 2020;1(1):14-9.
35. Fauzi NP, Sulistiyansih, Runadi D. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Jawer Kotok (*Coleus atropurpureus* (L) Benth.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* Attc 1223 dan *Staphylococcus epidermidis* Attc 12228. *J Farmaka*. 2017;15(3):45-55.
36. Sugiarti L, Shofa JM. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. *J of Cedekia Pharmacy*. 2020;5(2):185-95.
37. Syafriana V, Purba RN, Djuhariah YS. Antibacterial Activity of Kecombrang Flower (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Sm) Extract Against *Staphylococcus epidermidis* and *Propionibacterium acnes*. *J of Tropical Biodiversity and Biotechnology*. 2021;6(1):1-11.
38. Bokshi B, Zilani Mnh, Hossain H, Ahmed Mi, Anisuzzman M, Biswas NN, et al. Bioactivities of *Sonneratia Caseolaris* (Linn) Leaf and Stem Using Different Solvent Systems. *J of Scientific Technical Research*. 2020;31(5):24578-82.
39. Helda, Aspriyanto D, RHD S. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Rambai (*Sonneratia Caseolaris*) Konsentrasi 70%, 80% dan 90% terhadap *Streptococcus mutans In Vitro*. *J Kedokteran Gigi*. 2020;Iv(3):81-7.
40. Marbun ED, Sapitri A, Asfianti V. Activity Ethanol Extract, Ethyle Acetate Fraction, N-Hexan Fraction of Sofo-Sofo Leaves (*Acmella* Cf) Against *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus pidermidis* as Antibacteries. *Journal of Biosciences*. 2021;7(1):116-20.

Tinjauan Pustaka Bentuk Sediaan Tabir Surya Bahan Alam, Keamanan dan Efektivitas Tabir Surya

Putriana Rachmawati^{1*}, Reynelda Juliani Sagala¹, Pretty F. A. Kambira¹

Artikel Review

Abstract: The Indonesian government recommended sunbathing for 15 to 30 minutes in the morning to deal with the Covid-19 pandemic. Exposure to sunlight will activate the formation of vitamin D, which the body needs for defense against Covid-19 infection. However, excessive sun exposure will cause skin problems, including psoriasis, sarcoidosis, sunburn to skin cancer. One of the protections against sun exposure is the use of sunscreen. Sunscreen protects the skin from UV exposure by two mechanisms, namely, absorbing UV rays or reflecting UV rays. Currently, many sunscreens are developed with active substances derived from nature in various dosage forms. Sunscreen protection is stated using a photoprotector claim in the form of an SPF value or other supporting claims. This SPF value can be claimed using *in vivo* test, which previously could be predicted by *on paper* and *in vitro* approaches. Sunscreen safety is carried out by ensuring that the raw materials used comply with the requirements and penetration tests.

Keywords: sunscreen, dosage form, natural ingredients, SPF value claim, penetration test

Abstrak: Salah satu anjuran pemerintah Indonesia untuk menghadapi kondisi pandemik Covid-19 adalah dengan berjemur dibawah sinar matahari selama 15 hingga 30 menit di pagi hari. Paparan sinar matahari akan mengaktifasi pembentukan vitamin D, yang diperlukan tubuh untuk pertahanan terhadap infeksi Covid-19. Namun paparan sinar matahari yang berlebih akan menyebabkan masalah kulit antara lain psoriasis, sarcoidosis, sunburn hingga kanker kulit. Salah satu perlindungan yang dapat dilakukan terhadap paparan sinar matahari adalah penggunaan tabir surya. Tabir surya melindungi kulit dari paparan UV dengan dua mekanisme yaitu menyerap sinar UV atau memantulkan kembali sinar UV. Saat ini, banyak tabir surya dikembangkan dengan zat aktif berasal dari alam dengan berbagai bentuk bentuk sediaan. Perlindungan tabir surya dinyatakan menggunakan klaim fotoprotektor berupa nilai SPF maupun klaim lain yang mendukung. Nilai SPF ini dapat dilakukan secara *in vivo*, yang sebelumnya dapat di prediksi dengan pendekatan secara *on paper* dan *in vitro*. Keamanan tabir surya dilakukan dengan penjaminan bahwa bahan baku yang digunakan sesuai dengan persyaratan dan uji penetrasi.

Kata kunci: tabir surya, bentuk sediaan, bahan alam, klaim SPF, uji penetrasi

¹Program Studi Farmasi
Universitas Katolik
Indonesia Atma Jaya, Jakarta,
DKI Jakarta, Indonesia

Korespondensi:

Putriana Rachmawati
putriana.rachmawati@atmajaya
.ac.id

Pendahuluan

Pandemik melanda dunia pada tahun 2019 akibat merebaknya coronavirus (COVID-19). Ditengah kondisi pandemik, pemerintah Indonesia menghimbau warga untuk melakukan kegiatan berjemur selama 15-30 menit di pagi hari (1). Himbauan ini bertujuan untuk membantu proses aktivasi vitamin D karena tingginya kasus kematian pada COVID-19 berkaitan dengan adanya defisiensi vitamin D. Intensitas sinar UV (*Ultra violet*) di wilayah khatulistiwa menunjukkan keterkaitan antara insiden terjadinya COVID-19, tingkat keparahan, dan laju pemulihan terhadap penyakit ini (2,3)

Sinar matahari terdiri dari spektrum UV A, B dan C dengan rentang panjang gelombang masing-masing adalah 320-400 nm, 260-320 nm dan 200-260 nm(4). Sinar matahari memiliki beragam manfaat seperti membantu mencegah defisiensi vitamin D, kelainan psoriasis, sarcoidosis, mycosis fungoides, dan beragam penyakit kulit (5). Namun selain memberikan manfaat, sinar matahari dapat memberikan efek negatif seperti penuaan akibat sinar matahari bahkan hingga kanker kulit jika terjadi paparan secara berlebihan. Sinar matahari diketahui sebagai faktor resiko pada tiga jenis kanker kulit (6,7). Perlindungan terhadap paparan sinar matahari dapat dilakukan secara fisik, seperti pakaian, topi, payung dan kacamata, namun seringkali terdapat bagian tubuh yang tidak dapat terlindungi secara fisik, maka tabir surya dapat digunakan (8). Tabir surya melindungi kulit dari paparan UV dengan dua mekanisme yaitu menyerap sinar UV atau memantulkan kembali sinar UV (9). Tabir surya memiliki berbagai bentuk sediaan yang dapat disesuaikan dengan kebutuhan konsumen.

Perlindungan tabir surya ditujukan dengan klaim pada sediaan tersebut berupa nilai SPF (*Sun Protection Factor*) atau pun klaim lainnya yang mendukung fungsi tabir surya (10). Berdasarkan bahan aktifnya, tabir surya terdiri dari bahan organik dan anorganik. Berdasarkan asal bahan aktif

tersebut, terdapat bahan aktif dari bahan alam dan hasil sintesis. Bahan alam sebagai bahan aktif ini cukup banyak dikembangkan di Indonesia, dengan keragaman sumber daya yang berlimpah. Tujuan dari tinjauan pustaka ini adalah untuk menghimpun beberapa tabir surya yang sudah pernah dikembangkan dengan zat aktif berasal dari bahan alam. Efektivitas kinerja suatu tabir surya dinyatakan salah satunya dalam nilai SPF. Hasil pengujian nilai SPF hanya dapat di klaim apabila dilakukan secara *in vivo*. Namun dalam prakteknya, beberapa pendekatan perlu dilakukan sebelum dilakukan uji *in vivo*, untuk meminimalkan resiko nilai SPF yang jauh dari target (11).

Dalam sediaan kosmetik, termasuk tabir surya, keamanan merupakan faktor yang harus dipenuhi. Keamanan ini dijaga dari mulai pemilihan bahan baku. Bahan baku yang diizinkan terdapat dalam tabir surya tertera pada parturan BPOM Nomor 23 Tahun 2019 (12). Selain itu, produksi tabir surya juga hanya dapat dilakukan oleh industri kosmetik golongan A dimana industri tersebut memiliki apoteker sebagai penanggung jawab, fasilitas produksi dan laboratorium yang sesuai dan sudah menerapkan CPKB (Cara Pembuatan Kosmetik yang Baik). Salah satu pengujian yang dilakukan untuk memastikan keamanan sediaan ditahap akhir produksi adalah uji penetrasi (13).

Mekanisme Kerja

Tabir surya adalah sediaan kosmetika yang digunakan untuk melindungi kulit manusia dari pengaruh yang tidak diinginkan dari sinar matahari dengan mekanisme perlindungan tertentu. Sediaan tabir surya dapat dibuat dalam berbagai bentuk sediaan yaitu krim, losion, dan salep (14). Pada sediaan yang diaplikasikan secara topikal, tabir surya dibagi menjadi dua mekanisme, yaitu tabir surya yang mampu memantulkan atau menghamburkan cahaya matahari (*reflecting/scattering*) dan tabir surya yang menyerap sinar matahari (*absorbing*) (15).

Memantulkan atau membelokkan cahaya matahari (Reflecting/scattering)

Kemampuan tabir surya untuk memblokir radiasi UV ditentukan oleh indeks refraktif, ukuran partikel dan keadaan terdispersi dalam basis seta tebal lapisan saat pengaplikasian di kulit. Semakin tinggi nilai refraktif indeks, maka semakin tinggi kemampuan tabir surya tersebut memantulkan radiasi UV.

Kelemahan dari tabir surya tipe ini adalah memberikan warna keputihan pada kulit penggunaannya atau bisa kita sebut opasifikasi (*whitecast*). Tabir surya ini sering dikenal sebagai tabir surya anorganik sehingga aman dipakai pada anak-anak karena stabil dengan potensi alergi yang rendah.

Contoh bahan aktif dari kategori ini adalah titanium dioksida (TiO₂), zink oksida (ZnO), kaolin, talk dan magnesium oksida (MgO). Titanium dioksida merupakan salah satu bahan aktif bersumber dari alam yang dapat ditambang dari batuan ilmenite, rutilite dan anatase(16). Kaolin, talk dan magnesium oksida juga merupakan bahan yang dapat diisolasi dari alam dimana termasuk dalam bahan alam berupa mineral (17-19). Selain itu, terdapat lignin yang memiliki sifat memblokir UV dan telah digunakan dalam konsentrasi 5-10% (20-22).

Menyerap cahaya matahari (absorbing)

Tabir surya jenis ini dapat menyerap radiasi UV pada panjang gelombang yang berbeda sehingga dapat diklasifikasikan dalam tiga kategori, yaitu tabir surya untuk UV B, UV A dan tabir surya spektrum luas menyerap panjang gelombang 290-400 nm (9). Secara umum tabir surya ini memiliki struktur cincin aromatik yang terhubung dengan gugus karbonil (23). Tabir surya ini sering disebut dengan tabir surya organik, cenderung diserap oleh kulit sehingga tidak dapat digunakan oleh bayi. Contoh bahan aktif tabir surya anti UV-A adalah benzofenon-3 (*Phaleria macrocarpa*) (24) dan avobenzone. Sedangkan bahan aktif tabir surya anti UV-B adalah oktil metoksisinamat dan oktil salisilat.

Tabir surya dari alam yang bekerja dengan mekanisme ini adalah silymarin (*Silybum marianum*) karena memiliki sifat sebagai antioksidan(25). Selain itu, terdapat kelompok

marine antioxidant yang terkandung dalam alga (*Gracilariopsis longissimi* dan *Hydropuntia cornea*)(26). Tumbuhan lain yang memiliki zat aktif dengan mekanisme sebagai antioksidan dalam menghalau efek UV adalah tumbuhan dengan kandungan fenol, flavonoid dan tirosinase seperti *phaeranthus indicus* (SI) Linn (Asteraceae), *Elaeagnus*, *Moringa oleifera* dan *Helianthus annuus* (27-30).

Secara penggunaan sediaan, tabir surya dapat diaplikasikan secara topikal (bagian luar tubuh) dan secara sistemik dimana sediaan akan diminum oleh pasien (oral). Jenis tabir surya secara sistemik ini diserap oleh tubuh dan terakumulasi pada kulit agar terlindung dari sinar UV. Terdapat beberapa senyawa yang memberikan efek fotoproteksi secara sistemik seperti β -karoten, vitamin A, C, dan E), retinol, selenium, polifenol the hijau, PABA, antihistamin, aspirin, indomethasin, kotrikosteroid (31).

Bentuk Sediaan Tabir Surya Bahan Alam

Pemilihan bentuk sediaan tabir surya disesuaikan dengan jenis kulit dan aktifitas konsumen. Untuk kulit normal cenderung berminyak bentuk sediaan losion lebih cocok digunakan karena kekentalan yang rendah sehingga mudah merata pada kulit, sediaan krim sesuai untuk jenis kulit kering, dan gel cocok untuk kulit berminyak karena tidak mengandung komponen minyak. Bentuk sediaan lain yang lebih inovatif dan cocok digunakan oleh anak-anak adalah bentuk spray karena mudah digunakan. Namun kelemahan dari bentuk sediaan spray adalah membutuhkan lebih banyak ruang (untuk bobot yang sama) dibandingkan bentuk sediaan lain sehingga tidak praktis untuk dibawa. Selain itu terdapat bentuk sediaan stik yang dapat digunakan untuk area tubuh bagian tertentu (32).

Pengujian stabilitas fisik sediaan losion, gel dan krim dapat dilihat dari homogenitas fisik dari waktu ke waktu dimana tidak ada perubahan fisik seperti pemisahan fasa untuk sistem dua fasa seperti losion dan krim, dan sineresis pada gel. Pembuatan tabir surya sangat dipengaruhi oleh stabilisator (energi kimia), panas (energi panas) dan proses pencampuran untuk sediaan dua fasa (krim dan losion). Untuk sediaan gel yang merupakan sistem satu fasa, penggunaan panas

tidak diperlukan, namun pengadukan tetap diperlukan (33). Sebagai zat aktif, selain menggunakan agen tabir surya sintetis seperti yang telah dijelaskan diatas, tabir surya juga dapat menggunakan bahan alami, khususnya berasal dari tumbuhan seperti yang ada di **Tabel 1**.

Berdasarkan hasil pengujian *in vitro*, peningkatan konsentrasi ekstrak dalam sediaan tabir surya, mampu memberikan nilai SPF yang lebih tinggi. Agen tabir surya yang berasal dari tumbuhan ini lebih banyak bekerja dengan mekanisme menyerap UV atau digolongkan sebagai tabir surya organik (34). Penelitian nilai

SPF secara *in vivo* juga sudah dilakukan seperti pada formulasi ekstrak kulit bawang merah yang menunjukkan perlindungan pada *erythema* selama 24 jam. Untuk memberikan nilai SPF, perlu dibandingkan nilai nya dengan hasil *scoring erythema* pada kulit yang tidak terlindungi (35).

Klaim Fotoprotektor Tabir Surya

Tabir surya memiliki efek fotoprotektor karena melindungi kulit dari paparan sinar matahari. Paparan sinar matahari yang berkepanjangan dapat menyebabkan edema, *sunburn*, *photoaging*, *photoimmunosuppression* dan *photocarcinogenesis* (38).

Tabel 1 Bentuk Sediaan Tabir Surya

Bentuk Sediaan	Kandungan Aktif	Jenis Tabir Surya	Formula	Kesimpulan	Metode pengujian
Gel (24)	Mangiferin dari buah <i>Phaleria macrocarpa</i> (Mahkota Dewa)	Benzophenone (Organik dan natural)	Gelling agent: Carbopol 934 Pengawet: Propilparaben dan metilparaben Humektan: Propilenglikol Penyesuaian pH: TEA (Triethanolamine) Pelarut: Aquades	Peningkatan konsentrasi Mangiferin (1,25%; 2,5% dan 5%) meningkatkan nilai SPF dari 11,2; 38,6; dan 88,53 berdasarkan hasil	<i>In vitro</i>
Losion (36)	Kulit luar buah jengkol	Flavonoid yang mengandung gugus benzene aromatik terkonjugasi (Organik dan natural)	Pengemulsi: asam stearat, membentuk sabun dengan TEA menjadi TEA stearat Pelembut: Parafin cair Emolien: Setil Alkohol Pengawet: Metil Paraben dan Propil Paraben Humektan: Gliserin Pewangi: Oleum Rosae Pelarut: Aquades	Ekstrak metanol kulit luar buah jengkol 300 ppm sebanyak 0,3% dalam formulai losion memberikan nilai SPF 27,90	<i>In vitro</i>
Krim (37)	Buah Parijoto (<i>Madinilla speciosa</i> Blume)	Flavonoid, saponin (natural)	Fase air: Surfaktan: Tween 80 Ko-surfaktan: Gliserin Pengawet: metil paraben Pelarut: aquades Fase minyak: Surfaktan: Span 80 Ko-surfaktan: setil alkohol, asam stearate Pelarut: minyak mineral Pengawet: propil paraben	Krim tabir surya dengan ekstrak buah Parjoto memberikan nilai SPF 6,66	<i>In vitro</i>
Emulgel (35)	Kulit Bawang Merah (<i>Allium cepa</i> L.)	Flavonoid dan tanin (natural)	Gelling agent: Karbopol 940 Fase minyak : Minyak zaitun Pengemulsi: Tween 80: Span 80(3:2) Pengawet : Metil paraben dan propil paraben Antioksidan :BHT Humektan : Propilenglikol Penyesuaian pH: TEA Pelarut : Aquadest	Peningkatan konsentrasi Ekstrak etanol kulit bawang merah (0,05%; 0,1% dan 0,2% adalah) meningkatkan nilai SPF dari 9,59; 21,14 dan 35,85 berdasarkan hasil uji <i>in vitro</i> . Hasil <i>scoring erythema</i> adalah 0 setelah pemaparan 24 jam.	<i>In vivo</i>

Konsep *sun protection factor* (SPF) digunakan oleh FDA pada tahun 1978 dan merupakan metode yang digunakan secara universal untuk mengukur tingkat fotoprotektif dari tabir surya (38). Namun SPF hanya menggambarkan perlindungan terhadap sinar UVB dan tidak menggambarkan perlindungan terhadap sinar UVA. Hingga saat ini belum ada standard pengukuran fotoprotektor terhadap UVA yang diakui di seluruh dunia (39). Produsen tabir surya, L'Oreal mengembangkan suatu metode untuk mengukur fotoprotektif terhadap UVA yaitu metode *the persistent pigment darkening* (PPD) (40). Metode ini diukur berdasarkan kemampuan tabir surya melindungi terhadap PPD, yang merupakan hasil reaksi kimia dari melanin akibat terpapar radiasi UVA dalam waktu yang panjang. Metode PPD kemudian diklasifikasikan menjadi PA+, PA++, PA+++ dan PA++++ dan menjadi standar fotoprotektor di Japan secara resmi pada tahun 2013 (41) pada tahun dan banyak digunakan di negara asia.

Negara Australia dan Selandia Baru pada tahun 1993 mengesahkan standar fotoprotektor "*broad spectrum*" (42). Klaim ini hanya bisa digunakan pada produk yang memberikan batas transmisi absolut 10% dalam kisaran UV 320 hingga 360 nm. Produk *broad spectrum* tidak boleh memiliki SPF kurang dari 4.

Penentuan nilai SPF

Nilai SPF (*Sun Protection Factor*) didefinisikan sebagai energi yang dibutuhkan oleh paparan UV untuk menimbulkan efek terbakar karena sinar matahari (*sunburn*) pada kulit yang terlindungi dengan adanya tabir surya, dibandingkan terhadap kulit tanpa penggunaan pelindung. Nilai SPF juga dapat diartikan sebagai perbandingan numerik antara dosis eritemal minimal (MED, *minimal erythema dose*) dari kulit yang dilindungi tabir surya dalam jumlah 2 mg/cm^2 dan dosis eritemal minimal kulit yang tidak dilindungi tabir surya. Hubungan matematis yang dapat diwakili oleh persamaan: $\text{SPF} = \text{MED (kulit terlindungi)} / \text{MED (kulit tidak terlindungi)}$. Nilai SPF tidak dapat diasosiasikan secara langsung terhadap waktu paparan sinar matahari, karena terdapat parameter lain yang memengaruhi intensitas paparan seperti pagi dan siang hari, lokasi geografis dan keadaan berawan atau tidak (43)

Nilai klaim SPF dari suatu produk tabir surya harus dibuktikan secara *in vivo* menggunakan metode yang sudah disetujui untuk setiap negara target pemasaran Namun, karena pengujian *in vivo* ini membutuhkan biaya yang tidak sedikit dan waktu yang panjang, seringkali dilakukan pendekatan sebelum dilakukannya uji tersebut.

a. Prediksi nilai SPF berdasarkan literatur

Beberapa nilai SPF dari tabir surya tunggal bisa di dapatkan dari literatur atau menggunakan aplikasi seperti BASF sunscreen simulator® (44) atau DSM sunscreen optimizer® (45). Namun seringkali nilai SPF hasil prediksi ini berbeda dengan nilai SPF hasil uji *in vivo* karena penggunaan kombinasi jenis tabir surya dalam satu formula dan bahan eksepian lain yang mampu memengaruhi nilai SPF. Selain itu, karakteristik sediaan seperti bentuk sediaan, viskositas, jenis pembawa dan fisikokimia dari tabir surya itu sendiri seperti ukuran partikel dan kelarutan (46) juga memengaruhi kemampuan tabir surya dalam memberikan perlindungan.

b. Pengujian *in vitro*

Terdapat dua tipe *in vitro* yang dapat digunakan yaitu mengukur absorpsi atau transmisi radiasi UV melalui lapisan dalam lempengan quartz atau biomembran dan metode yang mengidentifikasi karakteristik absorpsi tabir surya menggunakan spektrofotometer analisis dari larutan encer (47,48). Review ini mencari sumber data primer dari internet dengan menggunakan mesin pencari/*search engine* secara *online* dari pedoman instansi yang berwenang. Kata kunci pencarian secara online adalah uji *in vitro*; nilai SPF; FDA, Colipa dan Boots (**Tabel 2**).

Dari tiga metode pada **Tabel 2**, lampu yang digunakan sebagai sumber radiasi adalah lampu yang memiliki panjang gelombang 290-400 nm yang menggambarkan UV A dan B. Ketiganya juga menggunakan substrat PPMA bertekstur untuk menggambarkan kulit. PMMA merupakan polimer asam acrylates yang tidak berbau, memiliki densitas rendah, mudah dibentuk dengan tingkat toksisitas yang rendah. Namun PMMA ini memiliki kekurangan yaitu memiliki kemampuan menyerap air yang tinggi sehingga teksturnya mudah berubah (49). Hal ini dapat memengaruhi hasil pengujian ketika sediaan tabir

surya memiliki kandungan air yang signifikan. Dari ketiga metode diatas FDA mensyaratkan jumlah pengujian yang lebih banyak dibandingkan metode Boots. Metode FDA ini sudah disetujui untuk klaim tabir surya spektrum luas sehingga tidak perlu dilakukan uji *in vivo* untuk klaim tersebut.

c. Pengujian *in vivo*

Untuk klaim nilai SPF pada produk tabir surya, perlu dilakukan pengujian secara *in vivo* agar produk tersebut dapat diregistrasikan. Untuk melakukan uji tersebut dapat menggunakan beberapa pedoman tergantung negara target pemasaran produk. Pedoman yang berlaku yaitu FDA untuk wilayah USA, COLIPA untuk wilayah eropa dan secara international terdapat pula ISO 24444:2010 yang merupakan harmonisasi dari aturan-aturan tersebut (**Tabel 3**).

d. Perbandingan nilai SPF berdasarkan literatur, hasil uji *in vivo* dan *in vitro*

Jika dilihat dari nilai SPF Titanium dioxide dan Ethyl hexyl triazone (**Tabel 4**), terdapat nilai yang berbeda secara signifikan antara pengujian *in vitro* dan *in vivo*. Dan tidak juga menunjukkan bahwa hasil *in vivo* lebih kecil atau lebih rendah dari uji *in vitro*. Hal ini menunjukkan bahwa banyak pengaruh yang belum terakomodasi dari pengujian *in vitro*. Kemungkinan besar adalah dari substrat yang digunakan belum menggambarkan respon kulit. Korelasi antara nilai SPF menggunakan DSM simulator cukup menggambarkan hasil *in vitro* untuk tabir surya dalam penggunaan tunggal, namun jika tabir surya tersebut sudah dilakukan kombinasi, perhitungan menggunakan simulasi menjadi tidak sesuai. Karena korelasi antara literatur dan metode *in vivo* yang tersedia saat ini masih rendah dibandingkan dengan hasil uji *in vivo*, maka memang selayaknya uji *in vivo* ini menjadi acuan yang harus dipenuhi untuk klaim nilai SPF sediaan tabir surya yang dipasarkan.

Tabel 2 Uji *In Vitro* Penentuan Nilai SPF

Acuan	Prinsip pengujian	Sumber radiasi	Substrat	Kontrol	Sampel
FDA (50)	Mengukur transmisi sinar UV yang dapat melalui membrane lapisan tabir surya menggunakan panjang gelombang tertentu	Sumber cahaya yang menghasilkan spektrum UV 290-400 nm	Plate PMMA dengan permukaan kasar pada salah satu sisi dengan tinggi dimensi 2-7 µm. Luas permukaan minimal 16 cm ² dan salah satu sisinya tidak kurang dari 4 cm. Nilai absorbansi minimal terdiri dari 3 plat PMMA dan dilakukan 5 pengukuran per plat sehingga total terdapat 15 hasil pengukuran.	Gliserin	0.75 mg/cm ²
Colipa (European Union) (51)	Mengukur transmisi sinar UV yang dapat melalui lapisan tabir surya yang disebarkan pada substrat kasar PMMA	Lampu Xenon yang mengemisikan cahaya pada panjang gelombang 290-400 nm 50-140W/m ²	PMMA yang memiliki bagian kasar (ketinggian sekitar 2 µm) pada permukaan bagian atas untuk menggambarkan struktur kulit berbentuk kotak dengan luas permukaan >16 cm ² (sekitar 50x50x2,5 mm).	Gliserin atau substansi tranparan	0,75 mg/cm ²
Boots (United Kingdom) (52)	Mengukur transmisi sinar UV yang dapat melalui lapisan tabir surya yang disebarkan pada substrat kasar PMMA, sebelum dan sesudah proses radiasi	Lampu Xenon yang mengemisikan cahaya pada Panjang gelombang 290-400 nm 17,5J/sq	PMMA (Polymrthymethacrylate) Minimal dilakukan 5 kali pengukuran pada wilayah yang tidak saling <i>overlying</i>	Gliserin	1,3 mg/cm ²

Tabel 3 Uji In Vivo Penentuan Nilai SPF

Acuan	FDA (53)	ISO 24444:2010 (54)
Sumber radiasi	Port tunggal atau rangkap yang dilengkapi dengan filter sehingga menghasilkan spektrum emisi 290-400 nm dengan batas daya 1500W/m ² dan Panjang gelombang berada diantara 250-1400 nm	Solar simulator Xenon Arc dengan Panjang gelombang 250-400 nm dengan daya 150 Watt
Standard	Sediaan dengan formula mengandung 7% padimate O dan 3% oxybenzone	NA
Subjek	Minimal menghasilkan 10 hasil uji yang valid. Maksimum 3 subjek tidak memenuhi kriteria pengujian. Memiliki tipe kulit I, II, III. Telah melalui penilaian fisik seperti keberadaan <i>sunburn</i> , <i>suntan</i> , luka atau watna kulit tidak merata pada lokasi uji. Subjek dengan <i>dysplastic</i> nevi tidak dapat diikutsertakan. Rambut berlebih pada lokasi uji diperbolehkan asalkan di klip dan tidak dicukur karena dapat menghilangkan stratum korneum secara signifikan.	Minimal 10 volunteer sehat dan tipe kulit I, II dan III
Lokasi pengujian	Pada bagian punggung, <i>belt line</i> dan bahu, lateral ke <i>midline</i> . Lokasi uji harus secara acak berlokasi di area tersebut. Setiap lokasi uji minimal 30 cm ² , terdiri dari 5 sub bagian dengan luas 0,5 cm ² dan jarak 0,8 cm.	Bagian punggung dengan area 40 cm ² . Setiap lokasi pengujian minimal 1 cm ² dan terpisah 1 cm.
Jumlah	2 mg/cm ²	2 mg/cm ²
Invalid test data	<ul style="list-style-type: none"> • Tidak terdapat <i>erythema</i> pada lokasi yang terlindungi atau tidak terlindungi tabir surya • Erythema muncul di semua lokasi uji • Respon tidak konsisten pada serangkaian dosis tabir surya atau subjek tidak memenuhi syarat ketika pengujian berlangsung 	<ul style="list-style-type: none"> • Respon pada lokasi uji menghasilkan respon yang tidak sesuai secara acak yang mengindikasikan produk tidak disebar dengan merata. • MED tidak dapat diperoleh karena menimbulkan respon di semua situs paparan. • Rangkaian paparan gagal untuk mendapatkan respon MED baik pada area kulit yang tidak diobati atau yang diaplikasikan.

Tabel 4 Perbandingan Nilai SPF

Agen tabir surya	Klasifikasi	Nilai SPF		
		Literatur (45)	In vivo	In vitro
Titanium Dioxide	Anorganik	<ul style="list-style-type: none"> • 9.1 (Parsol TX® 5%) • 15.5 (Parsol TX® 5% +Parsol 1789® 3%+Parsol TX5%)⁸ 	15.4 (5%+Avobenzone 3%+Ethylhexyl methoxycinnamate 7.5%)(58)	29.0 (5%+Avobenzone 3%+Ethylhexyl methoxycinnamate 7.5%)(58)
Ethylhexyl Triazone	Organik UV A	<ul style="list-style-type: none"> • 8.9 (5%, Parsol EHT®)⁸ • 45.1 (Parsol EHT®5%+Parsol Shield®10%)⁸ 	19.7(5%+BEMT10%)(59)	11.3 (5%+BEMT10%)(59)
Avobenzon		3.0 (Parsol 1789® 2%) ⁸	16.68 (3% dan oxtylmethoxycinnamate 7.5%)(60)	2.9 (2%)(61)
Bis-Ethylhexylox yohanol	Spektrum luas (UV A dan B)	<ul style="list-style-type: none"> • 24.9 (Parsol shield® 10%)⁸ 	19.7(10% +ethylhexyl Triazone 5%)(59)	19.7 (10%) ²³ 11.3 (10%+Ethylhexyl Triazone 5%)(59)

Agen tabir surya	Klasifikasi	Nilai SPF		
		Literatur (45)	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>
Methoxynyl Triazine (BEMT)		<ul style="list-style-type: none"> 45.1 (Parsol shield® 10%+Parsol EHT® 5%)⁸ 		

Uji Penetrasi

Agen tabir surya yang cukup banyak digunakan adalah titanium dioksida dan zinc oksida. Kedua tabir surya ini bekerja dengan memantulkan paparan UV. Keduanya memiliki kelemahan dimana menimbulkan warna keputihan pada kulit atau sering disebut dengan opasifikasi atau *whitecast* (55). Seiring dengan kemajuan teknologi, inovasi zinc oksida dan titanium dioksida dalam ukuran nanometer dikembangkan sebagai salah satu solusi untuk mengatasi masalah opasifikasi tadi, namun ukuran yang sangat kecil ini menimbulkan masalah baru dimana zat aktif rentan terabsorpsi kedalam kulit. Tabir surya merupakan salah satu sediaan yang digunakan dalam waktu cukup panjang dan sering kali dilakukan pemakaian secara berulang untuk mendapatkan efek perlindungan, dengan seperti itu, walaupun laju absorpsi dalam kulit berjumlah sedikit, dapat terjadi akumulasi karena waktu kontak yang panjang dan luas permukaan yang besar (56). Tabir surya hanya boleh berada di stratum korneum, karena ketika terjadi penetrasi dapat timbul kerusakan yang signifikan pada DNA (52). FDA juga mulai meberlakukan untuk setiap tabir surya menggunakan bahan yang sudah dikategorikan dalam GRASE (*Generally Recognized as safe and effective*) dan menyarankan untuk melakukan pengujian penetrasi pada tabir surya yang akan dipasarkan (57).

Bahan yang diijinkan digunakan di Indonesia

Di Indonesia, tabir surya digolongkan sebagai sediaan tabir surya yang didefinisikan sebagai kosmetika yang digunakan untuk melindungi kulit dari pengaruh sinar matahari (66). Kosmetika menurut definisi perundangan adalah “bahan atau sediaan yang dimaksudkan untuk digunakan pada bagian luar tubuh manusia seperti epidermis, rambut, kuku, bibir dan organ genital bagian luar, atau gigi dan membran

mukosa mulut terutama untuk membersihkan, mewangikan, mengubah penampilan dan/atau memperbaiki bau badan atau melindungi atau memelihara tubuh pada kondisi baik” (66). Bahan penyusun dari kosmetika tidak boleh menembus lapisan kulit dan beredar didalam sistem sirkulasi. Hal ini dikarenakan kosmetika digunakan untuk bagian luar tubuh dan penggunaan dengan intensitas tinggi dalam jangka waktu panjang, sehingga harus dipastikan bahwa penggunaannya tidak akan memberikan efek buruk jangka panjang.

Dalam menjamin keamanan dari tabir surya ini, maka pemerintah Indonesia melalui Badan Pengawasan Obat dan Makanan menerbitkan daftar bahan yang diatur dalam sediaan tabir surya (67). Peraturan ini memuat daftar bahan yang diperbolehkan untuk digunakan dalam sediaan tabir surya. Bahan selain dari yang disebutkan didalam peraturan, dilarang digunakan untuk sediaan tabir surya yang beredar di Indonesia, kecuali bahan alam di Indonesia. Namun, bahan alam berkhasiat tabir surya tersebut harus disertai pembuktian secara ilmiah atau empiris (68). Terdapat 30 bahan yang diperbolehkan dalam tabir surya, namun setiap bahan memiliki kadar maksimum yang boleh digunakan (**Tabel 6**). Diantara 30 bahan tersebut, 3 bahan diijinkan untuk digunakan dalam bentuk nano partikel, yaitu titanium dioxide, tris-briphenyl triazine dan zinc oxide (67). Bahan nanopartikel boleh digunakan dengan ketentuan tambahan yang harus dipenuhi oleh masing-masing bahan.

Tabel 5 Laju Penetrasi Sediaan Tabir Surya

Agen tabir surya	Bentuk sediaan	Aplikasi	Media uji	Sampel	Hasil	Instrumen analisa
Avobenzon, oxybenzone, octocrylene, homosalate, octisalate, and octinoxate (62)	Losion, aerosol spray, nanoaerosol spray dan pump spray	2 mg/cm ² pada 75% area tubuh selama 4 hari	12 subjek manusia	Sampel darah diambil selama 21 hari pada titik yang sudah ditentukan	Avobenzon memiliki laju penetrasi terbesar diantara agen tabir surya lainnya. Avobenzon terpenetrasi 7,1 ng/mL (73,9%) untuk losion, 3,5 ng/mL (70,9%) untuk aerosol spray, 3,5 ng/mL (73,0%) untuk nano aerosol spray, dan 3,3 ng/mL (47,8%)	HPLC tandem MS
2-ethylhexyl-4-methoxy cinnamate (Octinoxate), 2-ethylhexyl-2-cyano-3,3-diphenylacrylate (Octocrylene) (BASF), 4-t-butyl-4-methoxy dibenzoylmethane (Avobenzon) (DSM), 2-ethylhexyl-p-dimethyl PABA (Padimate O) (ISP) and 2-hydroxy-4-methoxy-benzophenone (Oxybenzone) (63)	2.0% w/w larutan dalam mineral oil	2 tetes	Membran epidermis dari kulit manusia perempuan bagian abdomen yang ditempatkan bagian atas sel difusi Franz	4% bovine serum albumin dalam dapar fosfat pH 7.4 pada suhu 35°C	95-98% berada dipermukaan kulit dan tidak terpenetrasi penetrated material	HPLC
s, isoamyl p-methoxycinnamate (IPMC), diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate (DHBB), and bis-ethylhexylphenol methoxyphenyl triazine (BEMT) (64)	Biomimetic lamellar o/w	5 µL/cm ²	Kulit babi dari bagian telinga	Larutan dapar fosfat saline yang disampling selama 12 jam	94% dari dosis yang diberikan tidak berpenetrasi lebih dari 1,7 mm lapisan kulit. Mempertimbangkan permeabilitas dar kulit porcin yang lebih tinggi diabndingkan manusia, maka tidak ada permease trandermal dari agen tabir surya tersebut.	HPLC
benzophenone-3 (BP-3) (65)	Encapsulated in mesoporous silica (MS) dalam emulsi o/w	500 mg pada area 3,14 cm ²	Franz glass diffusion cell	Larutan dapar fosfat pH 7.4 dan 2% Tween 20. Diambil selama 24 jam	Enkapsulasi BP 3 menahan laju penetrasi hingga 3 kali lebih lambat dibandingkan BP 3 yang tidak di enkapsulasi	UV-Vis spektrofotometer

Tabel 6 Daftar Bahan Tabir Surya dalam Kosmetika yang Diizinkan Digunakan di Indonesia (67) Dibandingkan dengan Global (69)

NAMA BAHAN (INCI)	Kadar Maksimum	Perlindungan	Perijinan dan Keterangan
Benzylidene camphor sulfonic acid (INCI)	6%	UV B	AUS, EU, JP, dan US-PCPC*
Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate	10%	UVA1 UVA2	EU, JP, dan AUS
Diethylhexyl butamido triazone	10%	UVB UVA1 UVA2	EU, JP, US-PCPC
Octocrylene	10%	UVB UVA2	AUS, EU, JP dan US (Nongrase III).
Polysilicone - 15	10%	UVB UVA2	AUS, EU, JP, US-PCPC
Ethylhexyl Dimethyl PABA	8%	UVB	AUS, EU, JP, dan US (Nongrase III) Merupakan senyawa turunan PABA yang tidak larut air.
PEG-25 PABA	10%	UVB	Digunakan di EU dan US-PCPC
Ethylhexyl salicylate	5%	UVB UVA2	di AUS, EU, JP dan USA (Nongrase III). merupakan senyawa fotodegradasi, <i>water-resistant</i> dan larut minyak.
Homosalate	10%	UVB UVA2	AUS, EU, JP, dan USA (Nongrase III) Merupakan senyawa fotodegradasi, teradsorpsi di kulit, larut minyak, berpotensi mengganggu hormon endokrin dan ditemukan pada ASI.
Benzophenone-4 Benzophenone-5	5%	UVB UVA2	AUS, EU, JP dan USA (Nongrase III). Di Indonesia digunakan sebagai asam. <i>Photostable</i> dan diserap oleh kulit
Isoamyl p-methoxycinnamate	10%	UVB UVA2	AUS, EU, US-PCPC
Menthyl anthranilate	5%	UVA1 UVA2	AUS dan USA (Nongrase III).
Methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol	10%	UVB UVA1 UVA2	AUS, EU, JP dan US-PCPC Sedikit bersifat fotodegradasi, kurang larut baik dalam minyak maupun air, minimal terserap oleh kulit, dan partikel mikrofine bersifat mirip dengan nanopartikel.
4-Methylbenzylidene camphor	4%	UVB UVA2	AUS, EU dan CA Merupakan senyawa berpotensi mengganggu fungsi endokrin.
Disodium phenyl dibenzimidazole tetrasulfonate	10%	UVA1 UVA2	AUS, EU, US-PCPC Di Indonesia digunakan sebagai asam. Senyawa <i>photostable</i> , larut air dan merupakan golongan <i>cosmetic photostabilizer</i> .
Ethylhexyl methoxycinnamate	10%	UVB UVA2	AUS (maks 10%), EU (maks 10%), JP (maks 20%), US (Nongrase III, maks 7,5%). Merupakan senyawa tidak larut air, <i>photodegradation</i> , berpotensi mengganggu endokrin, teradsorpsi pada kulit, dan dideteksi pada ASI.
Benzophenone-3	6%	UVB UVA2	AUS, EU, JP dan USA (Nongrase III). Merupakan senyawa <i>photostable</i> , teradsorpsi di kulit, terdeteksi pada ASI dan senyawa berpotensi mengganggu endokrin.
Drometrizole trisiloxane	15%	UVA1 UVA2	EU (maks 15%), AUS (maks 15%), CA (maks 10%), US-PCPC.

NAMA BAHAN (INCI)	Kadar Maksimum	Perlindungan	Perijinan dan Keterangan
			<i>Photostable</i> , larut minyak, sinergis terhadap terephthalylidene dicamphor sulfonic acid.
Phenyl benzimidazole sulfonic acid	8%	UVB UVA2	AUS, EU (maks 8%), JP (maks 3%), UAS (Nongrase III, maks 4%). Di Indonesia digunakan sebagai asam. <i>Photostable</i>
Terephthalylidene dicamphor sulfonic acid	10%	UVA1 UVA2	AUS, EU, USA (Tanpa rating GRASE, diijinkan melalui NDA 2006). Di Indonesia diijinkan digunakan sebagai asam. <i>Photostable</i> dan larut air.
Polyacrylamidomethyl Benzylidene Campho	6%	UVB	AUS, EU dan US-PCPC
Butyl methoxydibenzoylmethane	5%	UVA1	AUS (maks 5%), EU (maks 5%), JP (maks 10%), dan US (Nongrase III, maks 3%). <i>Photodegradation, photo-allergen</i> , larut minyak.
Titanium dioxide	25%	UVB UVA2	AUS (tanpa batas), EU, JP (25%), USA (Grase I, maks 25%). <i>Photostable</i> , berwarna putih.
Ethylhexyl Triazone	5%	UVB UVA2	AUS (maks 5%), EU (maks 5%), JP (maks 3%), dan US-PCPC. Tidak larut air, dan <i>water-resistant</i> .
Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine	10%	UVB UVA1 UVA2	AUS, EU, JP dan US-PCPC. <i>Photostable</i> , larut minyak, dan sedikit penetrasi ke dalam kulit.
Tris-biphenyl triazine	10%	UVB UVA2	EU
Camphor benzalkonium methosulfate	6%	UVB	EU dan US-PCPC (jarang).
Zinc oxide	25%	UVB UVA1 UVA2	AUS (tanpa batas), EU, JP (maks 25%) dan USA (Grase I, maks 25%). <i>Photostable</i> , warna putih.

Keterangan: GREASE = *generally recognized as safe and effective*. INCI = *International Nomenclature for Cosmetic Ingredients*. PCPC only = digunakan untuk *personal care products and cosmetics* tapi tidak digunakan pada sediaan tabir surya. UVA1: 340 – 400 nm, UVA2: 320 – 340 nm, UVB: 290 – 320 nm. USA-FDA Grase I adalah senyawa yang diijinkan untuk digunakan pada sediaan tabir surya. USA-FDA Nongrase II adalah senyawa yang tidak diijinkan untuk digunakan pada produk tabir surya. USA-FDA Nongrase III adalah senyawa yang saat ini belum mendapatkan ijin namun diperbolehkan ada pada produk yang ada dan sedang ditinjau oleh FDA.

Referensi

- Indonesia. Surat Edaran Nomor HK.02.01/Menkes/202/2020 tentang Protokol Isolasi Diri Sendiri dalam Penanganan Coronavirus Disease (Covid-19). Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; Mar 16, 2020.
- Sharun K, Tiwari R, Dhama K. COVID-19 and sunlight: Impact on SARS-CoV-2 transmissibility, morbidity, and mortality. *Annals of Medicine and Surgery*. 2021 Jun;66:102419.
- Asyary A, Veruswati M. Sunlight exposure increased Covid-19 recovery rates: A study in the central pandemic area of Indonesia. *Science of The Total Environment*. 2020 Aug;729:139016.
- Latha MS, Martis J, Shobha V, Sham Shinde R, Bangera S, Krishnankutty B, et al. Sunscreening agents: a review. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2013 Jan;6(1):16–26.
- Wilson BD, Moon S, Armstrong F. Comprehensive review of ultraviolet radiation and the current status on sunscreens. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2012;5(9):18.
- el Ghissassi F, Baan R, Straif K, Grosse Y,

- Secretan B, Bouvard V, et al. A review of human carcinogens—part D: radiation. *Lancet Oncol.* 2009;10(8):751–2.
7. Iannacone MR, Hughes MCB, Green AC. Effects of sunscreen on skin cancer and photoaging. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2014;30(2–3):55–61.
 8. Donglikar MM, Deore SL. Sunscreens: A review. *Pharmacognosy Journals.* 2016;8(3).
 9. Quatrano NA, Dinulos JG. Current principles of sunscreen use in children. Vol. 25, *Current Opinion in Pediatrics.* 2013. p. 122–9.
 10. US FDA. Sun Protection Factor (SPF) [Internet]. 2017 [cited 2022 Sep 26]. Available from: <https://www.fda.gov/about-fda/center-drug-evaluation-and-research-cder/sun-protection-factor-spf>
 11. Food and Drug Administration (FDA). Labeling and Effectiveness Testing: Sunscreen Drug Products for Over-The-Counter Human Use — Small Entity Compliance Guide [Internet]. 2012 [cited 2022 Sep 26]. Available from: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/labeling-and-effectiveness-testing-sunscreen-drug-products-over-counter-human-use-small-entity>
 12. Kementerian Kesehatan. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1175/MENKES/PER/VIII/2010 tentang Izin Produksi Kosmetik. 2010;
 13. Badan Pengawas Obat dan Makanan. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 23 Tahun 2019 tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetika. In 2019.
 14. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Indonesia Edisi VI [Internet]. Jakarta: Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan; 2020 [cited 2021 Jul 7]. Available from: <https://farmalkes.kemkes.go.id/2020/11/farmakope-indonesia-edisi-vi/>
 15. Fields SW. Sunscreens: mechanisms of action, use, and excipients. *IJPC.* 2008;6(1):4–5.
 16. National Library of Medicine. PubChem Compound Summary for CID 26042, Titanium dioxide [Internet]. 2022 [cited 2022 Sep 26]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Titanium-dioxide>
 17. Stefanidis SD, Karakoulia SA, Kalogiannis KG, Iliopoulou EF, Delimitis A, Yiannoulakis H, et al. Natural magnesium oxide (MgO) catalysts: A cost-effective sustainable alternative to acid zeolites for the in situ upgrading of biomass fast pyrolysis oil. *Appl Catal B.* 2016 Nov;196:155–73.
 18. Bergfeld M, Belsito M, Hill RA. Talc as used in cosmetics. *Cosmetic Ingredient Review* [Internet]. 2012 Aug 15 [cited 2022 Sep 26]; Available from: http://www.cir-safety.org/sites/default/files/talc_082012SLR.pdf
 19. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 56841936, Kaolin [Internet]. 2022 [cited 2022 Sep 26]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Kaolin>.
 20. Zhou Y, Qian Y, Wang J, Qiu X, Zeng H. Bioinspired Lignin-Polydopamine Nanocapsules with Strong Bioadhesion for Long-Acting and High-Performance Natural Sunscreens. *Biomacromolecules.* 2020 Aug 10;21(8):3231–41.
 21. Ratanasumarn N, Chitprasert P. Cosmetic potential of lignin extracts from alkaline-treated sugarcane bagasse: Optimization of extraction conditions using response surface methodology. *Int J Biol Macromol.* 2020 Jun;153:138–45.
 22. Li SX, Li MF, Bian J, Wu XF, Peng F, Ma MG. Preparation of organic acid lignin submicrometer particle as a natural broad-spectrum photo-protection agent. *Int J Biol Macromol.* 2019 Jul;132:836–43.
 23. Geoffrey K, Mwangi AN, Maru SM. Sunscreen products: Rationale for use, formulation development and regulatory considerations. *Saudi Pharmaceutical Journal.* 2019 Nov;27(7):1009–18.
 24. Yanti Eff AR, Rahayu ST, Saraswati H, Munim A. Formulation and Evaluation of Sunscreen Gels Containing Mangiferin Isolated from *Phaleria*

- macrocarpa Fruits. *Int J Pharm Investig.* 2019;9(3):141-5.
25. Couteau C, Cheignon C, Papis E, Coiffard LJM. Silymarin, a molecule of interest for topical photoprotection. *Nat Prod Res.* 2012 Dec;26(23):2211-4.
 26. Álvarez-Gómez F, Korbee N, Casas-Arrojo V, Abdala-Díaz R, Figueroa F. UV Photoprotection, Cytotoxicity and Immunology Capacity of Red Algae Extracts. *Molecules.* 2019 Jan 18;24(2):341.
 27. Banerjee K, Thiagarajan N, Thiagarajan P. Formulation and characterization of a *Helianthus annuus* - alkyl polyglucoside emulsion cream for topical applications. *J Cosmet Dermatol.* 2019 Apr 26;18(2):628-37.
 28. Baldisserotto A, Buso P, Radice M, Dissette V, Lampronti I, Gambari R, et al. Moringa oleifera Leaf Extracts as Multifunctional Ingredients for "Natural and Organic" Sunscreens and Photoprotective Preparations. *Molecules.* 2018 Mar 15;23(3):664.
 29. Ahmady A, Amini MH, Zhakfar AM, Babak G, Sediqi MN. Sun Protective Potential and Physical Stability of Herbal Sunscreen Developed from Afghan Medicinal Plants. *Turk J Pharm Sci.* 2020 Jun 1;17(3):285-92.
 30. Ahmad HI, Khan HMS, Akhtar N. Development of topical drug delivery system with *Sphaeranthus indicus* flower extract and its investigation on skin as a cosmeceutical product. *J Cosmet Dermatol.* 2020 Apr 24;19(4):985-94.
 31. Kaimal S, Abraham A. Sunscreens. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2011;77(2):238-43.
 32. Minerva P. Penggunaan Tabir Surya Bagi Kesehatan Kulit. *Jurnal Pendidikan Dan Keluarga.* 2019;11(1):87.
 33. Mosa FA, Makhlouf RO. Sunscreen Cream Formulation with Natural Ingredients, including Arabic gum and Beeswax Foundation . *Sirte University Scientific Journal(Applied Sciences).* 2019;9(1):1-11.
 34. He hailun, Li anqi, Li shiqin, Tang jie, Li li, Xiong lidan. Natural components in sunscreens: Topical formulations with sun protection factor (SPF). *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 2021 Feb;134:111161.
 35. Wulandari L, Suhartinah, Nopiyanti V. Formulasi dan Uji Aktivitas Perlindungan Tabir Surya Emulgel Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L .) secara *In Vitro* dan *In Vivo*. *Jurnal Ilmu Farmasi.* 2021;12(1):1-9.
 36. Sopian A, Fajr IRF, Syahdania N. FORMULASI SEDIAAN LOTION SEBAGAI TABIR SURYA DARI EKSTRAK METANOL KULIT LUAR BUAH JENGKOL (Archidendron jiringa (jack) I.C.Nielsen). *Edu Masda Journal.* 2021;5(2):64.
 37. Geraldine ET, Hastuti ED. Formulasi Krim Tabir Surya Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dan Uji Nilai SPF secara *In Vitro*. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Community.* 2018;15(2):92-8.
 38. Lim HW, Honigsmann H, Hawk JLM. *Photodermatology.* CRC Press; 2007.
 39. Lim HW, Naylor M, Hönigsmann H, Gilchrest BA, Cooper K, Morison W, et al. American Academy of Dermatology Consensus Conference on UVA protection of sunscreens: Summary and recommendations. *J Am Acad Dermatol.* 2001 Mar;44(3):505-8.
 40. Chardon A, Moyal D, Hourseau C. Persistent pigment-darkening response as a method for evaluation of ultraviolet A protection assays. *Cosmetic Science and Technology Series.* 1997;559-82.
 41. Eurofins Dermatest. JCIA ISO *In vivo* UVAPF Test [Internet]. [cited 2021 Nov 11]. Available from: [extension://elhekieabhbkmcefcobjddigjcaa dp/https://cdnmedia.eurofins.com/apac/media/601374/jcia.pdf](https://cdnmedia.eurofins.com/apac/media/601374/jcia.pdf)
 42. Standards Association of Australia, Standards New Zealand. Sunscreen products : evaluation and classification. Standards Australia; 1993.
 43. Sun Protection Factor (SPF) | FDA [Internet]. [cited 2021 Dec 10]. Available from: <https://www.fda.gov/about-fda/center-drug-evaluation-and-research-cder/sun-protection-factor-spf>
 44. BASF. Sunscreen Simulator [Internet]. [cited 2021 Oct 11]. Available from: <https://sunscreensimulator.basf.com/Sunscre>

- en_Simulator/login
45. DSM. DSM SUNSCREEN OPTIMIZER™ [Internet]. [cited 2021 Dec 10]. Available from: <https://www.sunscreen-optimizer.com/index.html>
 46. Geoffrey K, Mwangi AN, Maru SM. Sunscreen products: Rationale for use, formulation development and regulatory considerations. Vol. 27, Saudi Pharmaceutical Journal. Elsevier B.V.; 2019. p. 1009–18.
 47. Dutra EA, Gonçalves Da Costa E Oliveira DA, Rosa E, Kedor-Hackmann M, Rocha MI, Santoro M, et al. Determination of sun protection factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry. Vol. 40, Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2004.
 48. Donglikar MM, Deore SL. Sunscreens: A review. Vol. 8, Pharmacognosy Journal. EManuscript Services; 2016. p. 171–9.
 49. Zafar MS. Prosthodontic applications of polymethyl methacrylate (PMMA): An update. Vol. 12, Polymers. MDPI AG; 2020. p. 1–35.
 50. CFR - Code of Federal Regulations Title 21 [Internet]. [cited 2021 Dec 10]. Available from: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcr/cfrsearch.cfm>
 51. Matts PJ, Alard V, Brown MW, Ferrero L, Gers-Barlag H, Issachar N, et al. The COLIPA *in vitro* UVA method: A standard and reproducible measure of sunscreen UVA protection. Int J Cosmet Sci. 2010 Feb;32(1):35–46.
 52. Tampucci S, Burgalassi S, Chetoni P, Monti D. Cutaneous permeation and penetration of sunscreens: Formulation strategies and *in vitro* methods. Vol. 5, Cosmetics. MDPI AG; 2018.
 53. US FDA. Code of Federal Regulations Title 21. 2022.
 54. SPF TEST ACCORDING TO THE ISO 24444 PROTOCOL.
 55. Latha M, Martis J, Sham Shinde R, Bangera S, Krishnankutty B, Bellary S, et al. Sunscreening Agents A Review. Vol. 6, J Clin Aesthet Dermatol. 2013.
 56. US FDA. An update on sunscreen requirements: The deemed final order and the proposed order [Internet]. <https://www.fda.gov/drugs/news-events-human-drugs/update-sunscreen-requirements-deemed-final-order-and-proposed-order>. 2021 [cited 2022 Jul 12]. Available from: <https://www.fda.gov/drugs/news-events-human-drugs/update-sunscreen-requirements-deemed-final-order-and-proposed-order>
 57. Fda, Cder, Beitz, Julie G. Nonprescription Sunscreen Drug Products— Safety and Effectiveness Data Guidance for Industry [Internet]. 2016. Available from: <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>
 58. Rosado C, Tokunaga VK, Sauce R, de Oliveira CA, Sarruf FD, Parise-Filho R, et al. Another reason for using caffeine in dermocosmetics: Sunscreen adjuvant. Front Physiol. 2019;10(MAY).
 59. Peres DDA, Sarruf FD, de Oliveira CA, Velasco MVR, Baby AR. Ferulic acid photoprotective properties in association with UV filters: multifunctional sunscreen with improved SPF and UVA-PF. J Photochem Photobiol B. 2018 Aug 1;185:46–9.
 60. He hailun, Li anqi, Li shiqin, Tang jie, Li li, Xiong lidan. Natural components in sunscreens: Topical formulations with sun protection factor (SPF). Vol. 134, Biomedicine and Pharmacotherapy. Elsevier Masson s.r.l.; 2021.
 61. Abdassah M, Aryani R, Surachman E, Muchtaridi M. In-vitro assessment of effectiveness and photostability avobenzone in cream formulations by combination ethyl ascorbic acid and alpha tocopherol acetate. J Appl Pharm Sci. 2015;5(6):070–4.
 62. Matta MK, Florian J, Zusterzeel R, Pilli NR, Patel V, Volpe DA, et al. Effect of Sunscreen Application on Plasma Concentration of Sunscreen Active Ingredients: A Randomized Clinical Trial. JAMA - Journal of the American Medical Association. 2020 Jan 21;323(3):256–67.
 63. Hayden CGJ, Cross SE, Anderson C, Saunders NA, Roberts MS. Sunscreen penetration of human skin and related keratinocyte toxicity

- after topical application. *Skin Pharmacol Physiol.* 2005 Jul;18(4):170-4.
64. Haque T, Crowther JM, Lane ME, Moore DJ. Chemical ultraviolet absorbers topically applied in a skin barrier mimetic formulation remain in the outer stratum corneum of porcine skin. *Int J Pharm.* 2016 Aug 20;510(1):250-4.
65. Li CC, Lin YT, Chen YT, Sie SF, Chen-Yang YW. Improvement in UV protection retention capability and reduction in skin penetration of benzophenone-3 with mesoporous silica as drug carrier by encapsulation. *J Photochem Photobiol B.* 2015 Jul 1;148:277-83.
66. Indonesia. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 12 Tahun 2020 Tentang Tata Cara Pengajuan Notifikasi Kosmetika. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan; Jun 24, 2020.
67. Indonesia. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan No 23 Tahun 2019 tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetika. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan; Aug 22, 2019.
68. Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. A-Z Notifikasi Kosmetika di Indonesia. Direktorat Registrasi Obat Tradisional, Suplemen Kesehatan dan Kosmetik BPOM RI; 2020.
69. Sabzevari N, Qiblawi S, Norton SA, Fivenson D. Sunscreens: UV filters to protect us: Part 1: Changing regulations and choices for optimal sun protection. *Int J Womens Dermatol.* 2021 Jan;7(1):28-44.

Analisis Komponen Minyak Atsiri Daun Nilam (*Pogostemon cablin*) Lokal Pekanbaru Menggunakan GC-MS

Hilwan Yuda Teruna^{1*}, Wiwit Nur Rahayu¹

Artikel Penelitian

Abstract: *Pogostemon cablin* or nilam Aceh is a patchouli oil producer plant that is widely cultivated in Indonesia because the quality of the essential oil produced is better than other types of *Pogostemon*. The purpose of this study was to extract the local patchouli oil of Pekanbaru and compare its chemical components with standard patchouli oil. The quality of the patchouli essential oil of local Pekanbaru was also analyzed based on the chemical components. The extraction method used in this research was hydrodistillation using Clevenger apparatus. Volatile oil vapor evaporated together with water vapor and passed through the condenser. The oil was characterized by its components by GC-MS. The results found that the concentration of patchouli alcohol was 31.13%, along with other compounds such as α -patchoulene, β -patchoulene, seychellene, α -bulnesene, and cyclosativene. The difference of patchouli oil of *P. cablin* grown in Pekanbaru with the standard patchouli oil was that the concentration of patchouli alcohol in the local patchouli oil of Pekanbaru was high with no α -guaiene, there was a cyclosativene instead. Based on this, the local patchouli oil of Pekanbaru has a fairly good quality and has the potential to be developed further.

Keywords: gas chromatography-mass spectroscopy, hydrodistillation, patchouli oil

Abstrak: Tanaman nilam Aceh (*Pogostemon cablin*) merupakan jenis tanaman nilam yang banyak dibudidayakan di Indonesia karena kualitas minyak atsiri yang dihasilkan lebih baik dibanding jenis nilam lainnya. Tujuan dari penelitian ini adalah mengidentifikasi minyak nilam lokal Pekanbaru dan membandingkan komponen kimianya dengan minyak nilam standar serta menganalisa kualitas minyak atsiri nilam lokal Pekanbaru berdasarkan komponen kimia yang terdapat di dalamnya. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah hidrodistilasi menggunakan alat Clevenger. Uap minyak atsiri akan menguap bersama dengan uap air dan melewati kondensor. Komponen minyak yang diperoleh diidentifikasi dengan GC-MS. Hasilnya ditemukan senyawa *patchouli alcohol* dengan konsentrasi 31,13%, senyawa lainnya seperti α -*patchoulene*, β -*patchoulene*, *seychellene*, α -*bulnesene*, dan *cyclosativene*. Perbedaan minyak nilam lokal Pekanbaru dengan minyak nilam standar adalah konsentrasi senyawa *patchouli alcohol* pada minyak nilam lokal Pekanbaru lebih tinggi dan tidak ditemukan senyawa α -*guaiene* namun terdapat senyawa *cyclosativene*. Berdasarkan hal tersebut minyak nilam lokal Pekanbaru memiliki kualitas baik dan berpotensi untuk dikembangkan.

¹ Departement of Chemistry,
FMIPA-Universitas Riau,
Pekanbaru, 28281, Riau,
Indonesia

Korespondensi:

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

Kata kunci: hidrodistilasi, kromatografi gas-spektroskopi massa, minyak nilam

Pendahuluan

Minyak atsiri atau dikenal juga sebagai minyak eteris (*aetheric oil*) atau minyak essential. Minyak essential merupakan kelompok minyak nabati yang berwujud cairan kental pada suhu ruang namun mudah menguap sehingga memberikan aroma yang khas. Sebagian besar komponen dari minyak atsiri yaitu senyawa yang mengandung karbon dan hidrogen yang bersifat aromatik (1).

Di Indonesia terdapat tiga jenis nilam yaitu *Pogostemon cablin* Benth. atau nilam Aceh (**Gambar 1**), *Pogostemon hortensis* Backer (nilam Jawa), dan *Pogostemon heyneatus* Benth. (nilam sabun). Minyak nilam diekstraksi dari daun dan batang dengan proses penyulingan. Minyak nilam merupakan jenis minyak atsiri. Nilam merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri dan menyumbang devisa lebih dari 50% dari seluruh ekspor minyak atsiri Indonesia (2).



Gambar 1. Daun *P. cablin* (nilam)

Pembudidayaan tanaman nilam tergolong mudah, tanaman nilam dapat hidup di lahan apa saja. Seperti pekarangan, sawah dan kebun. Untuk mendapatkan produktivitas yang tinggi, tanaman nilam memerlukan lapisan tanah yang dalam, subur, kaya kan humus, berstruktur gembur, dan drainase yang baik. Tanaman nilam yang ditanam di dataran rendah mengandung minyak lebih tinggi dibanding yang di dataran tinggi. Tanah dengan kandungan organik yang tinggi mampu memberikan hasil yang lebih baik (3). Sumatera

adalah pulau yang membudidayakan tanaman nilam terbanyak di Indonesia.

Minyak nilam atau yang lebih dikenal dengan nama *patchouli oil* merupakan golongan minyak atsiri yang memberikan kontribusi penting dalam dunia *flavour* dan *fragrance* terutama untuk industri parfum dan aroma terapi (4). Pada umumnya, minyak nilam memiliki kadar *patchouli alcohol* tidak kurang dari 30%. Minyak nilam berwarna kuning jernih dan memiliki wangi khas yang sulit untuk dihilangkan (5).

Mutu minyak atsiri sangat ditentukan dari sifat dan komponen kimia yang terkandung didalamnya. Umur tanaman nilam juga merupakan salah satu faktor penentu kualitas mutu minyak atsiri nilam yang di hasilkan. Proses panen tanaman nilam yang dilakukan di usia tanaman yang masih muda dapat mempengaruhi kualitas minyak atsiri yang di hasilkan. Sejauh ini belum banyak penelitian tentang penentuan kualitas mutu minyak atsiri berdasarkan senyawa kimia yang ada didalamnya. Banyak penelitian sebelumnya yang hanya melaporkan penentuan mutu kualitas minyak atsiri berdasarkan sifat fisik seperti berat jenis, indeks bias, putaran optik dan kelarutan didalam etanol 70%. Penentuan mutu berdasarkan komponen kimia dalam minyak atsiri sangat penting untuk mengetahui secara umum senyawa kimia yang terdapat didalamnya (6). Peneliti ingin mengidentifikasi minyak atsiri daun nilam lokal Pekanbaru dan membandingkan komponen kimianya dengan minyak atsiri nilam dalam kemasan menggunakan GC-MS, untuk selanjutnya di analisis kualitas minyak atsiri yang didapat.

Bahan dan Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat distilasi, seperangkat alat hidrodistilasi Clevenger, seperangkat alat *gas chromatography-mass spectrometer* (GC-MS) Agilent 6980N dengan detector Agilent 5973 inert MSD, kolom J&W Scientific, HP-5MS, 0.25mm x 30m x 0.25 um dan *library* Wiley versi 8.0, peralatan gelas yang biasa digunakan di laboratorium kimia yang disesuaikan dengan prosedur kerja.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun nilam Aceh segar yang dikultivasi sendiri di Pekanbaru selama 3-4 bulan (Sp), minyak nilam standar merek Darjeeling® dari PT Darjeeling Sembrani Aroma kemasan 30 mL (St), *n*-heksana, akua DM, FeCl₃ 0,02 M, H₂SO₄ 2 N, Dragendorff, pereaksi Mayer, pereaksi Liebermann-Burchard, aquades.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia ekstrak kasar daun nilam dilakukan sebagai skrining awal untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam daun nilam sesuai dengan literatur (7).

Isolasi Minyak Atsiri Nilam

Daun tanaman nilam (*P. cablin*) yang segar sebanyak 410g dipanen dan dipotong-potong menjadi kecil menggunakan gunting untuk siap dihidrodistilasi. Kemudian daun nilam segar sebanyak 410g dihidrodistilasi secara menggunakan pelarut aqua demineralized sebanyak 1500mL selama ± 7-8 jam. Destilat kemudian ditambah pelarut *n*-heksana dengan perbandingan 2:1 sehingga terbentuk dua lapisan, selanjutnya lapisan atas diambil dengan pipet tetes dan dikeringkan agar *n*-heksana menguap.

Analisis Komponen Kimia

Penentuan komponen minyak atsiri nilam yang diperoleh dari hasil ekstraksi dilakukan dengan menggunakan seperangkat alat *gas chromatography-mass spectrometer* (GC-MS) Agilent 6980N Network GC system dengan autosampler. Kondisi analisis menggunakan kolom kapiler HP-5MS, panjang 30m, diameter 0,25mm, suhu injektor 250°C, gas pembawa helium dengan laju alir 1ml/menit. Suhu kolom terprogram (*temperature programming*) dengan suhu awal 50°C selama 5 menit, lalu dinaikkan perlahan-lahan dengan laju kenaikan 10°C/menit sampai suhu akhir 280°C yang dipertahankan selama 15menit. Cara identifikasi komponen minyak atsiri nilam adalah dengan membandingkan spektrum massa dan komponen minyak atsiri nilam yang diperoleh (*unknown*) dengan data library yang memiliki tingkat kemiripan (*similarity index*) tertinggi. Komponen

minyak atsiri standar kemasan juga juga di tentukan.

Hasil dan Diskusi

Ekstraksi Minyak Atsiri Nilam

Metode hidrodistilasi digunakan untuk memisahkan minyak atsiri nilam dengan komponen kimia lainnya yang ada pada daun nilam berdasarkan titik didih dan tekanan uap. Setelah proses hidrodistilasi selesai minyak atsiri daun nilam lokal Pekanbaru, kemudian ditambahkan

n-heksana untuk mengikat komponen minyak yang memiliki berat jenis lebih besar yang hampir mendekati berat jenis air agar tidak menyatu atau tenggelam dalam air sehingga destilat dapat terpisah dengan sempurna. Destilat dipisahkan secara manual dengan pipet tetes sehingga menghasilkan minyak atsiri daun nilam murni berwarna kuning keemasan dengan aroma khas nilam.

Analisis GC-MS Sampel SP Dan ST

Analisis komponen kimia dalam minyak nilam lokal Pekanbaru (SP) didapatkan hasil berupa 14 senyawa kimia seperti yang dapat dilihat pada **Tabel 1** ditemukan senyawa *patchouli alcohol* (1) sebanyak 31,13% pada waktu retensi 18,89 menit dan merupakan senyawa dengan puncak tertinggi. *Patchouli alcohol* merupakan senyawa utama dalam SP. Adapun Senyawa-senyawa lainnya yaitu α -*curcumene* 13,33%, α -*patchoulene* 5,55%, *patchoulene* 4,79%, β -*patchoulene* 3,76%, α -*bulnesene* 3,54, *cyclosativene* 5,43% dan senyawa *seychellene* 2,38%. Sedangkan komponen kimia minyak nilam standar (ST) dapat dilihat dalam **Tabel 1** yang menunjukkan pada waktu retensi 19,02 ditemukan puncak tertinggi dan teridentifikasi sebagai senyawa *patchouli alcohol* 21,48%, senyawa lainnya yaitu α -*patchoulene* 8,58%, senyawa β -*patchoulene* 3,85%, α -*bulnesene* sebesar 12,31%, *seychellene* 6,10% dan α -*guaiene* 11,60%.

Puncak senyawa *patchouli alcohol* atau *patchouliol* dari kedua sampel minyak ditemukan di akhir kromatogram. Hal ini menandakan titik didih senyawa *patchouliol* relatif tinggi. serta menyebabkan minyak nilam memiliki sifat *fixatif* yaitu sifat senyawa sebagai pengikat senyawa

atsiri lainnya. Tingginya titik didih campuran membuat aroma khas pada minyak atsiri yang di campurkan tidak mudah menguap, sehingga dapat digunakan sebagai pengikat bau atau aroma pada parfum dan kosmetik (8).

Berdasarkan konsentrasi dari senyawa *patchuolol* yang didapat dari kedua sampel, minyak nilam lokal Pekanbaru mengandung 31,13% senyawa *patchoulool*. Lebih besar dibandingkan dengan minyak nilam standar kemasan. Standar kualitas mutu minyak nilam berdasarkan Badan standarisasi nasional tahun 2006 (9), salah satunya yaitu mengandung minimal 30% senyawa *patchoulool*. Hal ini menandakan minyak nilam lokal Pekanbaru lebih memenuhi syarat kualitas mutu dibandingkan minyak nilam kemasan yang hanya mengandung 21,48% senyawa *patchuolol*. Hal tersebut juga dapat dikatakan bahwa minyak nilam lokal Pekanbaru yang diperoleh memiliki kualitas yang

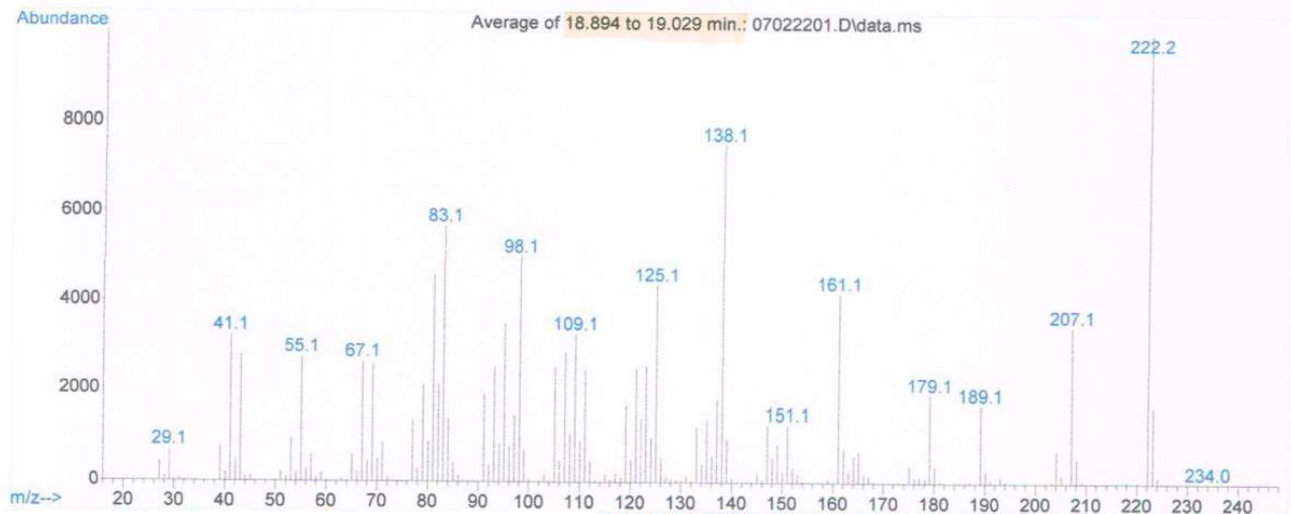
sama atau lebih baik dibandingkan dengan minyak nilam standar kemasan.

Fragmentasi hasil spektrometri puncak dengan waktu retensi 18,89 menit mempunyai M^+ 222 diikuti fragmen m/z 207, 189, 179, 161, 147, 138, 125, 109, 98, 83, 69, 55, 41 (profil fragmentasi disajikan pada **Gambar 2**). Berdasarkan perbandingan antara spektrum massa puncak tersebut dengan data *library*, maka puncak senyawa ini disimpulkan sebagai senyawa *patchoulool* dengan tingkat kemiripan (*similarity index*) = 94% dan rumus molekul nya $C_{15}H_{26}O$. Ion molekul M^+ 222 yang merupakan berat molekul dari senyawa *patchouli alcohol*. Pelepasan C_3H_7 dari puncak ion molekul menghasilkan fragmen $[C_{12}H_{19}O]^+$ dengan m/z 179. Pelepasan H_2O menghasilkan fragmen $[C_{12}H_{17}]^+$ dengan m/z 161 dan pelepasan CH_2 menghasilkan fragmen $[C_{11}H_{15}]^+$ dengan m/z 147. Fragmen terakhir yaitu $[C_3H_5]^+$ dengan m/z 41 dan juga sebagai *base peak*.

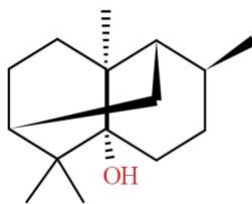
Tabel 1. Hasil uji GC-MS minyak atsiri daun nilam

rt	Nama Senyawa	SP		ST	
		%	IK	%	IK
1.45	Amasil	1.75%	90	-	-
1.61	Esani	10.98%	95	1.94%	95
2.15	2,2,2-trifluoro Acetamide	2.18%	90	-	-
15.34	Beta-Patchoulene	3.76%	98	3.85%	98
15.47	Beta-elemene, (-)-	-	-	1.30%	95
15.89	4,11,11-trimethyl-8-methylenebicyclo[7.2.0]undec-3-ene	-	-	2.93%	99
16.18	7-isopropenyl-1,4-dimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydroazulene	-	-	11.60%	99
16.27	Seychellene	2.38%	99	6.10%	99
16.35	Alpha-patchoulene	5.55%	99	8.59%	86
16.40	[1S-(1.alpha., 2.alpha., 3a.beta., 4.alpha., 5.alpha., 7a.beta., 8S*)]-7a-dimethyl-5-(1-methylethyl), octahydro-1, 1,2,4-Metheno-1H-indene	5.43%	90	-	-
16.59	Alpha-curcumene	13.33%	98	-	-
16.84	Patchoulene	4.79%	99	-	-
16.88	Beta-maaliene	-	-	3.54%	97
16.93	Alpha-Bulnensene	3.54%	99	12.31%	99
18.22	Phthalic acid	-	-	12.80%	97
18.49	1,1,4,7-tetramethyldecahydro-1H-cycloprosa[E] azulene-4-OL	-	-	1.19%	92
18.85	[1R-(1.alpha., 4.alpha., 6.alpha., 8A.alpha.)]-1,6-Methanonaphthalene-1 (2H)-OL, octahydro-4, 8A,9,9-tetramethyl	31.13%	94	21.48%	99

Keterangan: IK = Indeks kemiripan; SP = sampel minyak nilam Pekanbaru; ST = minyak nilam standar



Gambar 2. Pola fragmentasi senyawa patchaulol



1

Selain senyawa *patchoulol*, ditemukan juga beberapa perbedaan senyawa dalam kedua sampel. Minyak nilam kemasan mengandung senyawa α -*guaiene* sebesar 11,60% sedangkan dalam minyak nilam lokal Pekanbaru ditemukan senyawa α -*bulnesene* atau δ -*guaie*. Senyawa α -*guaiene* dalam minyak nilam diduga memiliki kemampuan yang sama seperti *patchouli alcohol* yaitu memiliki aktivitas antibakteri (10). Ditemukan juga senyawa lain yaitu *cyclosativene* dalam minyak nilam lokal Pekanbaru sebesar 5,43% dimana senyawa ini merupakan senyawa volatil yang biasa ditemukan di dalam minyak atsiri tetapi jarang ditemukan pada minyak atsiri nilam. Senyawa tersebut menunjukkan beberapa aktivitas biologis, termasuk aktivitas antioksidan dan aktivitas anti-karsinogenik dalam kultur neuron tikus sehat dan sel tumor neuroblastoma. Selain aktivitas tersebut, senyawa *cyclosativene* juga mampu menjadi agen *anticytotoxic* (11).

Minyak atsiri nilam lokal Pekanbaru memiliki kualitas yang baik pengaruhi oleh beberapa faktor seperti, umur panen yang sesuai, kondisi

tanah dan lingkungan yang baik pada saat penanaman, khususnya di Pekanbaru yang merupakan dataran rendah sehingga mampu menghasilkan minyak nilam dengan kualitas yang lebih baik dibanding minyak nilam dari daerah dataran tinggi.

Kesimpulan

Minyak nilam yang ditanam di Pekanbaru menghasilkan minyak atsiri berwarna kuning keemasan dengan aroma khas minyak nilam pada umumnya. Hasil analisis GC-MS dari kedua minyak nilam yaitu sama-sama mengandung senyawa utama *patchouli alcohol*, dan senyawa lainnya, ditemukan perbedaan yaitu adanya senyawa *cyclosativene* pada minyak nilam lokal Pekanbaru. Hasil analisis kualitas mutu minyak nilam lokal Pekanbaru berdasarkan komponen kimia, memiliki kualitas yang baik dengan didapatkan 31,13% senyawa *patchouli alcohol* dibanding minyak nilam standar yang hanya 21,48%.

Referensi

1. Guenther E. *Minyak atsiri jilid I*. Jakarta: UI-Press. 1997
2. Santoso H.B. *Nilam bahan industri wewangian*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta. 1990.
3. Rachmaniah M. & Nugraha A.G. Sistem pakar kesesuaian lahan untuk tanaman nilam. *Jurnal Ilmu Komputer Agri-Informatika*. 2018. 5 (1): 61-73.

4. Sastrohamidjojo H. *Kimia minyak atsiri*. UGM-Press. Yogyakarta. 2004
5. Wandiatmoko, Tamba. Pengaruh metode destilasi steam distillation dan steam-hydro distillation terhadap hasil kuantitatif dan kadar panchouli alcohol dari tanaman nilam. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya. 2009.
6. Ketaren S. *Minyak Atsiri: Ppengantar teknologi minyak atsiri*. Jakarta: Balai Pustaka Jakarta. 1985
7. Harborne J.B. Metode Fitokimia. Penerjemah: Kosasih Padma winata. *Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Terbitan Kedua*. Penerbit ITB. Bandung. 1987.
8. Ma'mun M., Maryadhi A. 2008. Isolasi *patchouli alcohol* dari minyak nilam untuk bahan referensi pengujian dalam analisis mutu. *Buletin Penelitian Tanaman Obat Dan Rempah*. 2008. 19 (1).
9. Badan Standarisasi Nasional, *SNI 06-2385-2006 (Minyak nilam)*, Jakarta. 2006
10. Kurniawan R., Nurjanah S., Rialita, T. Uji aktivitas antibakteri δ -*guaiene* minyak nilam terhadap bakteri staphylococcus aureus dan staphylococcus epidermis. *Gontor Agrotech Science journal*. 2020. 6 (3):425-436.
11. Turkez H., Togar B., Stefano A.D., Taspinar N. Protective effects of cyclosativene on H₂O₂-induced injury in cultured rat primary cerebral cortex cells. *Cytotechnology*. 2015. 67:299-309.

Preventive Health Behaviors pada Caregiver Pasien Lansia dan Hubungannya dengan Kepatuhan Pengobatan di Sulawesi Selatan

A. Anggriani^{1*}, Fita Rahmawati², Izyan Abdul Wahab³

Artikel Penelitian

Abstract: Elderly patients (geriatrics) with various clinical problems arise due to the degenerative process of carrying out personal activities that require assistance from other people called caregivers. A caregiver, in addition to helping with the individual actions of geriatric patients, also plays a full role in the healing process if the patient experiences clinical problems. This can result in caregivers having a mental burden that must be considered so that the care process for elderly patients can run smoothly. This study was conducted to identify aspects of individual caregivers' mastery and examine the method of treating geriatric patients, especially in adherence to medication use. This study used a cross sectional design involving 131 respondents. Data was collected through interviews with caregivers of elderly patients who received health services at the South Sulawesi Health Center. The Pearlin Mastery Score questionnaire instrument was used to measure the mastery of individual caregivers, and the pill counting method was used to determine the level of patient compliance. Data analysis used descriptive statistics and Spearman-rho to determine the relationship between emotional attachment and adherence with geriatric patients. The analysis results showed a correlation coefficient of 0.417**, namely, the level of association between dynamic control variables on the level of compliance of geriatric patients was 0.417 or a moderate correlation with the relationship between variables in the direction and feasible significant ($p < 0.05$). Therefore, to increase the level of satisfaction of geriatrics to meet the needs of geriatrics.

Keywords: geriatrics, caregiver, preventive health behavior, drug use compliance

Abstrak: Pasien lanjut usia atau geriatri rentan terhadap berbagai masalah klinis yang timbul akibat proses degeneratif dan berpengaruh dalam menjalankan kegiatan pribadi sehingga membutuhkan bantuan dari orang lain yang disebut *caregiver*. Seorang *caregiver*, selain membantu kegiatan pribadi pasien geriatri, juga berperan penuh dalam proses penyembuhan pasien. Hal ini dapat mengakibatkan *caregiver* akan memiliki beban mental yang harus diperhatikan agar proses *caregiving* pada pasien lanjut usia dapat berjalan dengan lancar. Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi aspek penguasaan emosional individu *caregiver* serta menelaah perannya dalam proses pengobatan pasien geriatri, terutama pada kepatuhan penggunaan obat. Penelitian ini menggunakan rancangan *cross sectional* yang melibatkan 131 responden. Pengumpulan data dilakukan melalui wawancara terhadap *caregiver* pasien usia lanjut yang mendapatkan layanan kesehatan di Puskesmas daerah Sulawesi Selatan. Instrumen kuesioner *Pearlin Mastery Score* digunakan untuk mengukur penguasaan emosional individu *caregiver*, dan *pill count method* untuk mengetahui tingkat kepatuhan pasien. Analisis data menggunakan statistik deskriptif terkait data demografi pasien dan *caregiver* serta *Spearman-rho* untuk mengetahui hubungan antar variabel. Hasil analisis menunjukkan angka koefisien korelasi sebesar 0,417** yaitu tingkat hubungan antara variabel penguasaan emosional *caregiver* terhadap tingkat kepatuhan pasien geriatri adalah sebesar 0,417 atau korelasi sedang dengan hubungan antar variabel searah dan bernilai signifikan ($p < 0,05$). Semakin tinggi tingkat penguasaan emosional *caregiver* maka semakin tinggi tingkat kepatuhan pasien geriatri.

Kata kunci: *caregiver*, geriatri, kepatuhan penggunaan obat, *preventive health behaviour*

- ¹Departemen Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas
Hasanuddin, Makassar,
Sulawesi Selatan, Indonesia
- ²Fakultas Farmasi, Universitas
Gadjah Mada, Yogyakarta,
Indonesia
- ³Univeritas Malaya, Malaysia

Korespondensi:

A. Anggriani
anggrianiandi@gmail.com

Pendahuluan

Populasi penduduk di dunia saat ini terus berkembang dan menua. Jumlah penduduk dengan usia di atas 60 tahun adalah 814 juta penduduk pada tahun 2013, yang diperkirakan lebih tinggi populasinya menjadi 4 kali lebih banyak dari tahun 1950 dengan jumlah penduduk usia 60 tahun sebesar 202 juta penduduk (1). Di Indonesia, hal ini dapat dilihat dari persentase penduduk lansia tahun 2008, 2009 dan 2012 telah mencapai di atas 7% dari keseluruhan penduduk khususnya di Indonesia(2).

Dengan penambahan umur, fungsi fisiologis manusia mengalami penurunan akibat proses degeneratif (penuaan) sehingga penyakit yang berkaitan dengan penurunan fungsi organ

banyak muncul pada usia lanjut. Fungsi sistem imun pada penduduk usia lanjut akan menurun sehingga rentan terkena penyakit infeksi baik infeksi bakteri, virus dan fungi.

Dalam beberapa kasus klinik seperti pasien lanjut usia yang menderita demensia, perlu adanya peran orang lain yang dekat dengan pasien dalam merawat mereka. Pasien lanjut usia perlu dibantu dalam beberapa aktivitas pribadinya, seperti memandikan, memberi makan, membersihkan diri saat mengompol, dan kegiatan lain yang berkaitan dengan kegiatan pribadi dari pasien lanjut usia. Oleh karena itu, perlu adanya peran seorang *caregiver* dalam membantu pasien geriatri baik dari keluarga sendiri, perawat, ataupun seseorang yang dengan suka rela membantu dalam menjalankan beberapa aktivitas pribadi (3). Dalam penelitian Widyakusuma (2013), terdapat peran *caregiver* dari pihak keluarga dalam mengontrol jadwal pasien minum obat pasien lanjut usia. Dalam hal ini terdapat peran *caregiver* untuk membantu terkait pemantauan kepatuhan minum obat dari pasien lansia. *Caregiver* merupakan seorang individu yang memberikan perawatan kepada seseorang tanpa dibayar, di rumah maupun di fasilitas kesehatan, yaitu merawat seseorang dengan kondisi fisik dan mental yang diakibatkan karena penyakit kronis ataupun mempunyai kondisi yang lemah dan menua (4). Beberapa contoh dari *caregiver* termasuk anak remaja yang merawat orang tuanya dengan penyakit kronis, orang tua yang merawat anaknya yang

mempunyai keadaan disabilitas, dan sebagainya (5). *Caregiver* juga bertanggung jawab untuk memberikan perawatan setelah pasien menderita suatu penyakit yang melemahkan fisik dan mental. Sejumlah faktor eksternal, seperti kepribadian *caregiver*, dukungan sosial, status dalam keluarga serta tanggung jawab lainnya dapat memengaruhi bagaimana seseorang menilai tanggung jawab dan beban pengasuhan mereka (6).

Preventive Health Behaviour adalah setiap aktivitas yang diambil alih oleh seseorang, dimana orang tersebut percaya bahwa dirinya sendiri sehat untuk tujuan mencegah atau mendeteksi suatu penyakit dalam keadaan asimtomatik (7). Secara umum, terdapat beberapa hal yang dirasakan *caregiver* saat merawat pasien lanjut usia. Hal-hal tersebut dapat berupa efek negatif yang berdampak pada masalah kesehatan, baik secara fisik maupun mental (psikologis). Kebanyakan dari *caregiver* mengalami gangguan mental berupa: masalah depresi, masalah kecemasan, tingkat kepuasan yang rendah, kehilangan jati dirinya, stres yang berkepanjangan, gangguan emosi, konflik keluarga dan menurunnya kualitas hidup dari *caregiver* saat merawat pasien lanjut usia. Kemudian terkait masalah fisik, *caregiver* merasakan adanya penurunan kemampuan prevensi diri untuk hidup sehat, penurunan tingkat imunitas tubuh terhadap serangan mikroba, peningkatan gejala penyakit kardiovaskular dan terdapat masalah penyembuhan pada luka. Efek negatif yang juga sering terjadi pada *caregiver* berkaitan dengan fungsi fisik dapat berupa kelelahan, nyeri kepala yang memburuk insomnia dan gejala gangguan pencernaan (8).

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi aspek *preventive health behaviour* dari *caregiver* saat merawat pasien geriatri di Indonesia. Dengan adanya penelitian ini diharapkan ada suatu tindakan yang sesuai untuk meningkatkan kinerja *caregiver* dalam merawat pasien lanjut usia dan juga dalam rangka memberikan perhatian khusus kepada *caregiver* itu sendiri secara aspek kemanusiaan, baik secara kesehatan maupun kesejahteraan *caregiver* tersebut. Dan penelitian ini juga bermaksud dalam menganalisis peran *caregiver* dalam

meningkatkan kepatuhan pasien lanjut usia dalam menjalankan pengobatan, terutama saat minum obat.

Metode Penelitian

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *cross sectional* yang melibatkan 131 *caregiver*. Pengumpulan data dilakukan dengan melakukan wawancara berdasarkan kuisisioner pada pengasuh utama pasien geriatri yang menjalani pengobatan di beberapa Puskesmas di daerah Sulawesi Selatan. Periode pengumpulan data dilakukan selama Maret hingga April 2018. *Caregiver* yang diteliti adalah pengasuh utama yang merawat pasien geriatri selama periode Januari 2017 sampai dengan Januari 2018.

Subjek Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah *caregiver* pasien geriatri yang tercatat di beberapa daerah di Sulawesi Selatan dengan kriteria inklusi yaitu pasien berusia ≥ 60 tahun, kriteria inklusi *caregiver*: pengasuh utama usia dewasa (>18 tahun), pengasuh utama (mengasuh secara langsung) pasien minimal satu bulan, pasien geriatri adalah pasien yang tercatat mendapatkan obat di fasilitas Puskesmas selama periode Januari 2017 hingga Januari 2018 di beberapa daerah di Sulawesi Selatan. Kriteria Eksklusi meliputi, pengasuh utama yang sering mengalami sakit, pengasuh utama dengan kelainan kognitif sehingga tidak mampu menjawab pertanyaan.

Pengukuran

Instrumen penelitian dalam penelitian ini meliputi :

1. Informasi tentang pasien geratri yang diperoleh dari beberapa fasilitas kesehatan pada periode Januari 2017 sampai dengan Januari 2018.. Persetujuan menjadi responden dinyatakan saat bertemu secara langsung dengan responden. Dalam hal ini ditemani dengan petugas puskesmas atau yang berkapabilitas.
2. Kuesioner untuk mengetahui karakteristik pasien dan pengasuh utama yang meliputi

nama, umur, jenis kelamin, pendidikan, nomor telepon, status kekeluargaan, serta lama mengasuh.

3. Kuesioner *Pearlin Mastery Scale* merupakan instrumen untuk mengukur tingkat

penguasaan individu yang didefinisikan sebagai keadaan emosional dan kognitif yang dapat mempengaruhi perilaku dan kesehatan saat menghadapi peristiwa kehidupan yang penuh tekanan. Skor yang lebih tinggi menunjukkan tingkat penguasaan yang lebih tinggi. Rasa penguasaan yang tinggi diharapkan bisa mengurangi tekanan psikologis dan meningkatkan kesejahteraan.

Pill Count adherence adalah metode untuk mengukur kepatuhan pasien dengan melakukan penghitungan residual pada pengobatan pasien untuk memperoleh % kepatuhan dengan rumus Grymonpre dan dapat digunakan dalam berbagai bentuk sediaan, seperti tablet, kapsul, dan inhaler. Keuntungan lain dari pengukuran tidak langsung/objektif ini adalah hemat biaya, sederhana, dan sangat akurat (9).

Analisis Data

Data yang telah dikumpulkan dianalisis dengan menggunakan *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) Versi 23.0. Semua data deskriptif dinyatakan sebagai persentase. Sedangkan untuk data kontinu, dinyatakan sebagai mean \pm *standard deviation* dan dianalisis dengan *Spearman-rho*.

Ijin Etik

Persetujuan etik penelitian diperoleh dari Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada (KE/FK/0285/EC/2019).

Hasil dan Diskusi

Jumlah subyek dalam penelitian ini adalah 131 orang. Data penelitian menunjukkan bahwa paling banyak *caregiver* berjenis kelamin perempuan dan berusia <40 tahun.

Tabel 1. Karakteristik demografi Pasien

Karakteristik	Jumlah Pengasuh (%)
Jenis Kelamin	
Perempuan	75,57
Laki-laki	24,43
Usia	
18<40 tahun	0
40-60 tahun	27,48
>60 tahun	72,52
Pendidikan	
Dasar-Menengah	90,84
Atas/ Lanjutan	9,16

Tabel 2. Karakteristik demografi Caregiver

Karakteristik	Jumlah Pengasuh (%)
Jenis Kelamin	
Perempuan	75,57
Laki-laki	24,43
Usia	
18<40 tahun	51,15
40-60 tahun	32,82
>60 tahun	16,03
Pendidikan	
Dasar-Menengah	54,20
Atas/ Lanjutan	45,80

Tabel 3. Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
PHB	131	14	21	17.69	1.885
Valid N (listwise)	131				

Tabel 4. Compliance

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Tidak Patuh	63	48.1	48.1
	Patuh	68	51.9	100
	Total	131	100	100

Untuk menentukan penguasaan individu ini didasarkan oleh skor kuesioner *Pearlin Mastery Scale* dimana skornya berada pada rentang adalah 0-28. Nilai yang tinggi berarti menunjukkan penguasaan yang lebih baik dengan kata lain, skor yang lebih tinggi menunjukkan tingkat penguasaan yang lebih besar. Penguasaan rasa yang tinggi diharapkan dapat mengurangi tekanan psikologis dan meningkatkan kesejahteraan. Berdasarkan hasil pengisian kuesioner oleh *caregiver* pada

penelitian ini, didapatkan skor *Pearlin Mastery Scale* yang paling tinggi yaitu 21 dan yang paling rendah yaitu 14 dengan rata-rata sebesar 17,69 dan SD $\pm 1,885$.

Penilaian terhadap kepatuhan minum obat pasien, menggunakan metode *pill count* yaitu menghitung jumlah sisa obat dibandingkan dengan lama penggunaan obat. Nilai kepatuhan dalam bentuk persentase dikategorisasi menjadi patuh ($\geq 80\%$) dan tidak patuh ($< 80\%$).

Tabel 5. Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Adherence	131	4000	10000	7929.3	1850.567
Valid N (listwise)	131				

Tabel 6. Correlations

		Preventive health behaviours	Medication adherence
Spearman's rho	preventive health behaviours	Correlation Coefficient	1
		Sig. (2-tailed)	.417**
	medication adherence	N	130
		Correlation Coefficient	130
		Sig. (2-tailed)	.417**
		N	0

Dalam penelitian ini, sebanyak 68 pasien masuk dalam kategori patuh dan 63 pasien tidak patuh. Menurut penelitian Saifi (2018), Pengasuh membutuhkan pengetahuan dan dukungan seperti teknologi multifaset berbasis intervensi untuk membantu kepatuhan minum obat (10).

Pada analisis hubungan tingkat penguasaan *caregiver* dengan kepatuhan pasien geriatri, hasil analisis menunjukkan angka koefisien korelasi sebesar 0,417** yaitu tingkat hubungan antara variabel penguasaan emosional *caregiver* terhadap tingkat kepatuhan pasien geriatri adalah sebesar 0,417 atau korelasi sedang dengan hubungan antar variabel searah dan bernilai signifikan ($p < 0,05$).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi tingkat penguasaan emosional *caregiver* maka semakin tinggi tingkat kepatuhan pasien geriatri.

Referensi

1. Mai DL. Risky Behaviors and Associated Factors among the Elderly in Rural Vietnam, *J. Aging Sci.* 2017. Doi: 0.4172/2329-8847.1000182.

2. Primadi, Oscar. 2013. Buletin Jendela: Data dan Informasi Kesehatan Semester I 2013. Kemenkes RI: Jakarta. 2013.

3. Yulawati AD, Woelan Handadari. Hubungan antara Tingkat Stres dengan Tindak Kekerasan pada *Caregiver* Lansia dengan Demensia, *Jurnal Psikologi Klinis dan Kesehatan Mental* 2013; 02(1).

4. Widyakusuma, N. Peran Pendamping Dalam Program Pendampingan Dan Perawatan Sosial Lanjut Usia Di Lingkungan Keluarga (Home Care): Studi Tentang Pendamping Di Yayasan Pitrah Sejahtera, Kelurahan Cilincing, Kecamatan Cilincing Jakarta Utara, *Informasi* 2013. Vol. 18(02).

5. Ackroyd, S. *The Caregiver Handbook*. Nova Scotia: Canada. 2007

6. Rospenda KM. *Caregiver Burden and Alcohol Use in a Community Sample*, *NIH Public Access, J Addict Dis.* 2010; 29(3): 314–324. doi:10.1080/10550887.2010.48945.

7. Werle, Carolina. *The Determinants of Preventive Health Behavior: Literature Review and Research Perspectives*, Working paper serie RMT (WPS 11-15). 2011.

8. Cho YH, Jin Suk Ra. Correlation between Preventive Health Behavior and Family

- Burden in Family *Caregivers* for the Elderly with Dementia, *Indian J Sc Technol.* 2015;8(26),DOI:10.17485/ijst/2015/v8i26/81889.
9. Young S, Yeonhee P, Eun SK, and Lee J. "European Journal of Oncology Nursing Caregiving Burden and Health-Promoting Behaviors among the Family *Caregivers* of Cancer Patients." *European Journal of Oncology Nursing.* 2015. 19(2): 174–81. <https://doi.org/10.1016/j.ejon.2014.09.003>.
 10. Saifi ES. Family *caregivers'* perspectives on medication adherence challenges in older people with dementia: a qualitative study. *Aging & Mental Health.* 2018.

Amikasin: Profil Penggunaan pada Pasien Dewasa Rawat Inap di RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta berdasarkan Fungsi Ginjal

Esti Dyah Utami^{1,2}, Ika Puspitasari^{3,4*}, Rizka Humardewayanti Asdie^{5,6},
Endang Lukitaningsih⁷, Andaru Dahesihdewi^{8,9}

Artikel Penelitian

¹Program Studi S3 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

²Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

³Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

⁴Rumah Sakit Akademik, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

⁵Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

⁶Bagian Penyakit Dalam, Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Sardjito, Yogyakarta

⁷Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

⁸Departemen Patologi Klinik dan Kedokteran Laboratorium, Fakultas Kedokteran Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

⁹KSM Patologi Klinik dan Kedokteran Laboratorium, Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Sardjito, Yogyakarta

Korespondensi:

Ika Puspitasari
ika.puspitasari@gmail.com

Abstract: Amikacin is used for serious infection treatment, with a nephrotoxicity incidence of 3-13%. More than 90% of amikacin is excreted through the renal in unchanged form, thus accumulation may occur in renal dysfunction. This research is aimed to determine the amikacin usage profiles based on the patient's renal function and evaluate the association between a renal function with hospital discharge conditions and length of stay (LOS). This research was conducted by collecting the medical record data of adult inpatients at Dr. Sardjito Hospital treated with amikacin in 2020. A Chi-Square test was used to determine the proportion differences between 2 groups of patients with different renal functions, and the relationship of renal function with discharge condition and LOS. The majority of 78 subjects had normal renal function, with a diagnosis of mixed infection. Amikacin was used as definitive therapy, as an antibiotic combination, with a median dosage of 14.3mg/kgBW/day, 12 hours interval, and 5 days duration. Results showed that the CrCl, infection type, comorbid, amikacin intervals and duration had significantly different proportions ($p < 0.05$) between patients with normal renal function and those with renal dysfunction. Renal function was positively associated with the patient's discharge condition, but not with LOS.

Keywords: amikacin, usage profile, renal function, hospitalized patient.

Abstrak: Amikasin digunakan untuk pengobatan infeksi serius, dengan insidensi nefrotoksitasnya mencapai 3-13%. Lebih dari 90% amikasin diekskresikan melalui ginjal dalam bentuk tidak berubah, dengan demikian akumulasi dapat terjadi pada disfungsi ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil penggunaan amikasin berdasarkan fungsi ginjal pasien serta mengevaluasi hubungan fungsi ginjal terhadap kondisi keluar rumah sakit (KRS) dan *length of stay* (LOS). Penelitian ini dilakukan dengan pengumpulan data rekam medis pasien dewasa rawat inap di RSUP Dr. Sardjito yang mendapatkan terapi amikasin selama tahun 2020. Uji *Chi-Square* digunakan untuk menentukan perbedaan proporsi penggunaan amikasin antara 2 kelompok pasien dengan fungsi ginjal berbeda, serta hubungan fungsi ginjal dengan kondisi KRS dan LOS. Mayoritas dari 78 subyek penelitian memiliki fungsi ginjal normal, dengan diagnosis terbanyak berupa infeksi campuran. Amikasin sebagian besar digunakan sebagai terapi definitif, sebagai kombinasi antibiotik, dengan median dosis 14,3mg/kgBB/hari, interval 12 jam, dan durasi 5 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *CrCl*, jenis infeksi, komorbid, interval dan durasi amikasin memiliki proporsi yang berbeda signifikan ($p < 0,05$) antara pasien ginjal normal dan gangguan ginjal. Fungsi ginjal berasosiasi positif dengan kondisi keluar rumah sakit pasien, namun tidak berhubungan dengan LOS.

Kata kunci: amikasin, profil_penggunaan, fungsi_ginjal, pasien rawat inap

Pendahuluan

Antibiotik aminoglikosida bersifat bakterisidal, poten, dan berspektrum luas, dengan tingkat resistensi lebih rendah (1,2). Aminoglikosida yang sering digunakan yaitu gentamisin, tobramisin, dan amikasin (1), pada pasien GGK di RSUP Dr. Sardjito yaitu gentamisin, amikasin, dan streptomisin (3). Amikasin efektif melawan isolat resisten gentamisin dan tobramisin (4), digunakan dalam terapi infeksi serius seperti meningitis, pneumonia, dan sepsis (2,5), terutama akibat bakteri gram negatif resisten gentamisin (6), sesuai dengan restriksi formularium nasional (7). Aminoglikosida bersifat *dose dependent* namun memiliki indeks terapi sempit, sehingga semakin tinggi dosis pemberian maka kemampuan antibakterial meningkat, tetapi di sisi lain beresiko menimbulkan efek tidak diinginkan, antara lain ototoksisitas, nefrotoksisitas (1-10%), dan toksisitas neuromuskular (lebih jarang). Reaksi tidak dikehendaki lainnya (<1%) yaitu reaksi alergi, *dyspnea*, dan eosinofilia (1,8). Insidensi nefrotoksisitas akibat penggunaan amikasin cukup besar yaitu 3-13% (1,9).

Amikasin memiliki nilai fraksi obat tak berubah sebesar 0,94-0,98 (10), sehingga >90% akan diekskresikan tidak berubah dalam urin melalui ginjal. Nilai $t_{1/2}$ amikasin berkisar 2-3jam pada pasien dewasa fungsi ginjal normal (11,12). Akumulasi dapat terjadi pada pasien disfungsi ginjal, sehingga perlu penyesuaian dosis (13,14). Aminoglikosida menunjukkan *postantibiotic effect* (PAE), semakin besar dosis maka semakin lama PAE, sehingga *high-dose extended-interval dosing* sering diterapkan. Strategi pemberian dosis ini juga mengurangi resiko nefrotoksisitas dan meningkatkan kenyamanan (15). Menurut (16), *general dosage* amikasin adalah 15mg/kg/hari dalam dosis terbagi setiap 8-12jam secara IV atau IM, dengan modifikasi interval dosis pada pasien disfungsi ginjal. Dosis harus disesuaikan tergantung faktor usia, gangguan ginjal, terapi berkepanjangan yang dapat mempengaruhi resiko toksisitas, atau resiko konsentrasi subterapeutik (11).

Fungsi ginjal pasien merupakan salah satu faktor yang penting diperhatikan dalam penentuan regimen terapi amikasin. Amikasin merupakan antibiotik dengan tingkat sensitivitas

tinggi dibandingkan antibiotik lainnya, sehingga menjadi pilihan apabila antibiotik lain telah resisten, namun penelitian yang mengkaji khusus tentang amikasin di Indonesia masih sangat terbatas. Di sisi lain, masih tingginya angka ketidaktepatan penggunaan (43,8-84,31%) maupun pendosisan antibiotik (40,91-82%) di Rumah Sakit di Indonesia berdasar penelitian sebelumnya (3,17,18,19,20,21,22), mengindikasikan bahwa evaluasi penggunaan antibiotik di Rumah Sakit perlu dilakukan secara berkelanjutan, salah satunya adalah amikasin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil penggunaan antibiotik amikasin pada pasien rawat inap di RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta selama periode tahun 2020 berdasarkan fungsi ginjal pasien, serta mengetahui hubungan antara fungsi ginjal terhadap kondisi KRS dan lama rawat inap (LOS) pasien.

Metode Penelitian

Penelitian *cross-sectional* ini dilakukan secara retrospektif dengan mengambil data rekam medik (RM) pasien di RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta tahun 2020, menggunakan metode *total sampling*. Populasi penelitian: pasien dewasa rawat inap di RSUP Dr. Sardjito pada tahun 2020 dengan diagnosis yang diindikasikan untuk terapi amikasin atau memiliki hasil kultur sensitif amikasin. Sampel penelitian: semua populasi yang memenuhi kriteria inklusi: berusia ≥ 18 tahun, diagnosis penyakit infeksi, dan mendapatkan terapi amikasin. Data yang diambil berupa data karakteristik pasien dan penggunaan amikasin, yang dicatat dalam tabel pengumpul data. Gangguan ginjal (AKI/CKD), komorbid berupa penyakit kardiovaskular dan DM, ditentukan berdasar diagnosis dokter sebelum terapi amikasin. Data SCr awal merupakan data yang ada sebelum penggunaan amikasin. Jenis infeksi berdasar diagnosis yang berkaitan terapi amikasin, sedangkan jenis bakteri berdasar hasil kultur sebelum atau selama terapi amikasin dan sesuai dengan jenis infeksinya.

Analisis deskriptif dilakukan terhadap data karakteristik pasien dan profil terapi amikasin. Analisis statistik bivariat dengan Uji *Chi Square* (tingkat kemaknaan 5% ($\alpha=0,05$), 95% CI) untuk mengetahui perbedaan proporsi karakteristik pasien (JK, usia, CrCl, jenis infeksi, komorbid), profil terapi amikasin (jenis antibiotik, dosis,

frekuensi, dan durasi pemberian) antara pasien fungsi ginjal normal dan gangguan ginjal; serta mengetahui hubungan antara fungsi ginjal pasien terhadap kondisi Keluar Rumah Sakit (KRS) dan *Length of Stay* (LOS). Usia, dosis, frekuensi, durasi amikasin, dan LOS dikelompokkan dalam 2 kategori berdasar *median*. Nilai ClCr dibagi dalam 4 kriteria (>90; >60-90; >25-60; dan <25mL/min), sedangkan kondisi KRS dibagi membaik dan tidak membaik (menetap/memburuk/meninggal). Penelitian ini telah mendapatkan *ethical approval* dari Komite Etik Penelitian Kesehatan FKMK UGM dengan No KE/FK/0885/EC/2020, serta izin dari RSUP Dr. Sardjito No LB.02.01/XI.2.2/29971/2020.

Hasil dan Diskusi

Gangguan ginjal merupakan keadaan fungsi organ ginjal yang mengalami penurunan sampai dengan tidak mampu bekerja lagi (23), diklasifikasikan menjadi *Acute Renal Failure* (ARF) dan *Chronic Kidney Disease* (CKD) (24). Berdasarkan diagnosis dari klinisi, 49 dari 78

(62,8%) subyek penelitian ini memiliki fungsi ginjal normal, dengan rentang serum kreatinin (SCr) dan klirens kreatinin (CrCl) sebelum terapi amikasin berturut-turut 0,84 mg/dL dan 75,1 mL/min, serta *median* berkisar 0,22-5,67mg/dL dan 12,08-439,90mL/min, seperti yang tercantum dalam **Tabel 1**. Hasil uji *Chi Square* menunjukkan proporsi CrCl memiliki perbedaan signifikan ($p < 0,001$) antara kelompok pasien fungsi ginjal normal dibandingkan gangguan ginjal. Terlihat jelas dalam **Tabel 3** bahwa dengan semakin menurunnya nilai CrCl, maka semakin sedikit proporsi pasien ginjal normal, sebaliknya semakin banyak persentase pasien gangguan ginjal. Kecepatan filtrasi glomerulus (GFR) ginjal dapat diukur dengan nilai CrCl. Penggunaan rumus *Cockcroft-Gault* masih direkomendasikan dalam memperkirakan fungsi ginjal untuk penyesuaian dosis (25). Nilai SCr bisa mengalami perubahan setiap hari, sehingga pengukuran serial kreatinin harus dilakukan tiap hari atau minimal tiap 3 hari, tergantung kondisi klinis pasien (26).

Tabel 1. Karakteristik Subyek Penelitian di RSUP Dr. Sardjito

Karakteristik	Jumlah pasien (persentase) n=78	Median (range)
Jenis Kelamin		
Laki-laki	50 (64,1)	
Perempuan	28 (35,9)	
Usia (tahun)		56,5 (19-85)
Fungsi Ginjal		
Normal	49 (62,8)	
Gangguan Ginjal	29 (37,2)	
SCr awal (mg/dL)		0,84 (0,22-5,67)
CrCl (mL/min) (Cockcroft-Gault)		75,1 (12,1-439,9)
Tipe Infeksi		
1 jenis infeksi	32 (41,0)	
≥2 jenis infeksi	46 (59,0)	
Bakteri Penyebab Infeksi		
1 jenis bakteri	36 (46,1)	
≥2 jenis bakteri	30 (38,5)	
Negatif / tidak ada hasil kultur bakteri	12 (15,4)	
Komorbid (CVD atau DM)		
Ya	47 (60,3)	
Tidak	31 (39,7)	
Lama Rawat Inap (hari)		22,5 (4-63)
Kondisi Keluar Rumah Sakit		
Membaik	36 (46,2)	
Tidak Membaik	42 (53,8)	

Keterangan: SCr = serum creatinine, CrCl = creatinine clearance, CVD = cardiovascular disease, DM = Diabetes Mellitus.

Tabel 2. Pola Terapi Amikasin pada Subyek Penelitian di RSUP Dr. Sardjito

Pola Terapi	Jumlah rejimen (persentase) n = 98	Median (range)
Jenis Antibiotik		
Amikasin Tunggal	21 (21,4)	
Kombinasi Antibiotik	77 (78,6)	
Tipe Terapi Amikasin		
Empiris	35 (35,7)	
Definitif	55 (56,1)	
Empiris → Definitif	8 (8,2)	
Rute Pemberian		
Infus Intra Vena	83 (84,7)	
Injeksi Intra Vena / Intra Muskular	3 (3,1)	
Injeksi Subkonjungtiva	4 (4,1)	
Tetes Mata	8 (8,2)	
Dosis (mg/kgBB/hari)		14,3 (1,7-34,5)
<15	49 (50,0)	
15-20	33 (33,7)	
>20	6 (6,1)	
Tanpa keterangan*	10 (10,2)	
Interval Pemberian (jam)		12,0 (0,2-48,0)
8	20 (20,4)	
12	25 (25,5)	
24	41 (41,8)	
48	4 (4,1)	
Lain-lain	8 (8,2)	
Durasi Terapi (hari)		5,0 (1-19)
1-7	64 (65,3)	
8-14	31 (31,6)	
>14	3 (3,1)	

Keterangan: *dosis tidak tercantum dengan jelas dalam data rekam medis pasien

Karakteristik pada **Tabel 1** menunjukkan subyek yang mendapatkan terapi amikasin sebagian besar berjenis kelamin laki-laki (64,1%) dengan rentang usia antara 19-85 tahun dan median 56,5 tahun. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian sebelumnya dengan subyek mayoritas laki-laki (27,28), namun berbeda dengan di RSCM dimana 52,2% pasien perempuan (29). Sesuai **Tabel 3**, proporsi jenis kelamin dan usia pasien tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($p=0,841$ dan $p=0,815$) antara kelompok pasien ginjal normal dan gangguan ginjal. Pada semua kriteria jenis kelamin maupun usia pasien, proporsinya relatif sama dan lebih banyak yang memiliki fungsi ginjal normal. Pasien dengan gangguan ginjal berjenis kelamin laki-laki (19 pasien) lebih banyak dibandingkan perempuan (10 pasien), sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya (22,30). *Indonesian Renal Registry* (IRR) juga menyatakan bahwa sejak tahun 2001-2012, jumlah pasien

laki-laki selalu lebih banyak dibandingkan perempuan (31). Penurunan fungsi ginjal pasien CKD lebih cepat terjadi pada laki-laki daripada perempuan (32).

Diagnosis dari klinisi berupa penyakit infeksi yang terkait dengan pemberian amikasin, mayoritas (59,0%) merupakan diagnosis *mixed infection* atau ≥ 2 jenis infeksi (**Tabel 1**). Amikasin paling banyak digunakan untuk terapi sepsis/syok sepsis+pneumonia (35,9%), disusul pneumonia saja (terutama HAP/VAP). Data ini menunjukkan bahwa sepsis/syok sepsis mayoritas infeksi berasal dari paru atau saluran pernafasan, sesuai hasil penelitian sebelumnya (27,29). Amikasin juga diberikan pada pasien ulkus kornea berat, ILO, TB ekstra paru MDR, ulkus DM, ISK, dan lain-lain. Laporan yang sama bahwa aminoglikosida sebagai terapi sepsis, pneumonia, ISK, ulkus DM, dan lain-lain (3).

Tabel 3. Hasil Analisis Karakteristik dan Pola Terapi Amikasin berdasarkan Fungsi Ginjal

Variabel	Fungsi Ginjal n (%)		p-Value ^a
	Ginjal Normal	Gangguan Ginjal	
Karakteristik Pasien (n = 78 pasien)			
Jenis Kelamin	Laki-laki	31 (62,0)	0,841
	Perempuan	18 (64,3)	
Usia	< 57 tahun	25 (64,1)	0,815
	≥ 57 tahun	24 (61,5)	
CrCl	>90 ml/min dan usia <60 tahun	20 (100,0)	<0,001*
	>60-90 ml/min atau usia ≥60 tahun	23 (79,3)	
	>25-60 ml/min	5 (31,3)	
	<25 ml/min	1 (7,7)	
Jenis Infeksi	1 infeksi	25 (78,1)	0,020*
	≥ 2 infeksi	24 (52,2)	
Komorbid (CVD/DM)	Ya	24 (51,1)	0,008*
	Tidak	25 (80,6)	
Pola Terapi Amikasin (n = 98 regimen)			
Jenis Antibiotik	Tunggal	11 (52,4)	0,243
	Kombinasi	51 (66,2)	
Dosis (n = 88)	< 15 mg/kgBB/hari	27 (55,1)	0,271
	≥ 15 mg/kgBB/hari	26 (66,7)	
Interval	≤12 hari	41 (77,4)	0,002*
	>12 hari	21 (46,7)	
Durasi	≤5 hari	28 (53,8)	0,040*
	>5 hari	34 (73,9)	

Keterangan: CrCl = creatinine clearance, CVD = cardiovascular disease, DM = Diabetes Mellitus, ^a = Berdasarkan hasil uji Chi-square, * = Berbeda signifikan secara statistik (p-value < 0,05)

Amikasin digunakan pada infeksi serius (tulang, saluran nafas, endokarditis, dan septikemia) akibat organisme resisten gentamisin atau tobramisin, dan infeksi mikobakteri (8). Proporsi jenis infeksi memiliki perbedaan signifikan antar kelompok fungsi ginjal (p=0,020). Pasien dengan diagnosis 1 jenis infeksi sebagian besar memiliki ginjal normal (78,1%). Kelompok gangguan ginjal dengan 1 jenis infeksi hanya 7 pasien, sedangkan 22 pasien memiliki diagnosis ≥2 jenis infeksi (**Tabel 3**). Ini menunjukkan kecenderungan pasien gangguan ginjal rentan mengalami lebih banyak infeksi. Pasien gangguan ginjal kronis merupakan pasien yang rentan terhadap infeksi, baik infeksi bakteri maupun virus (3).

Pada **Tabel 1**, hasil kultur dari sampel darah/sputum/urin/dasar luka menunjukkan penyebab infeksi terbanyak yang ditemukan adalah 1 jenis bakteri (36 pasien), 15,4% diantaranya *A. baumannii* dan 7,7% *K. pneumonia*.

Penyebab infeksi yang terdiri ≥2 jenis bakteri juga didominasi kedua bakteri tersebut bersama bakteri lain seperti *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. maltophilia*, *K. kristinae*, *E. coli*, *E. cloacae*, dan lain-lain. (29) melaporkan hasil serupa bahwa bakteri terbanyak pada pasien sepsis ialah *K. pneumonia*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* dan *E. coli*. Aminoglikosida mengatasi infeksi bakteri gram negatif, termasuk MDR strain seperti MRSA, *vancomycin-resistant*, *pandrug resistant P. aeruginosa*, *A. baumannii*; *Pseudomonas* spp., *Mycobacterium* spp, anggota *Enterobacteriaceae*, *Providencia* spp., *Proteus* spp., *Morganella* spp., dan *Serratia* spp. (1,2,4,33). Kelebihan amikasin yaitu memiliki tingkat resistensi lebih rendah, karena strukturnya menyebabkan lebih tahan terhadap enzim penginaktivasi aminoglikosida yang diproduksi bakteri, sehingga amikasin sensitif terhadap strain bakteri yang resisten aminoglikosida lain. Amikasin juga punya struktur yang mengurangi efek toksisitas sehingga relatif aman (2,34,35).

Tabel 1 juga memperlihatkan bahwa komorbid berupa penyakit kardiovaskuler dan atau Diabetes Mellitus (DM) dialami oleh sebagian besar subyek (47 pasien atau 60,3%). Terdapat perbedaan bermakna pada proporsi komorbid antar kelompok fungsi ginjal ($p=0,008$). Pasien tanpa komorbid mayoritas (80,6%) fungsi ginjalnya normal, sedangkan pasien dengan komorbid (CVD/DM) proporsinya hampir sama antar kedua kelompok. Pasien gangguan ginjal cenderung lebih banyak memiliki komorbid (23 pasien) daripada tanpa komorbid yang hanya 6 pasien (**Tabel 3**). Penelitian lain melaporkan 22,4% subyek memiliki komorbid Diabetes (27), 50% mengalami hipertensi dan 12,5% CHF (36). Faktor resiko CKD terbanyak adalah DM dan hipertensi (23). Tekanan darah tinggi yang terus-menerus dapat mempengaruhi fungsi ginjal, begitu pula kadar glukosa darah yang tidak terkontrol menahun dapat merusak pembuluh darah ginjal (37).

Dari 78 subyek penelitian, 15 pasien diantaranya mendapatkan lebih dari 1 regimen amikasin yang berbeda, sehingga diperoleh total 98 regimen. Sebagaimana terlihat pada **Tabel 2**, amikasin lebih banyak diberikan dalam kombinasi dengan antibiotika lain (78,6%), sedangkan 21,4% terapi amikasin tunggal. Proporsi jenis antibiotik (tunggal dan kombinasi) relatif sama yaitu pada pasien ginjal normal lebih banyak dibandingkan gangguan ginjal, namun tidak berbeda bermakna ($p=0,243$) (**Tabel 3**). Penelitian sebelumnya menyatakan terapi aminoglikosida 20% tunggal dan 80% kombinasi (3). Aminoglikosida digunakan pada pasien penyakit kritis, terutama kombinasi dengan antibiotik lain (36). Pada penelitian ini antibiotika terbanyak yang dikombinasi dengan amikasin yaitu: Meropenem, Metronidazol, Vankomisin, dan Trimetoprim/ sulfametoxazol. Golongan lainnya adalah sefalosporin, quinolon, dan obat antituberkulosis. Sebagian kombinasi hanya dilakukan beberapa hari awal atau akhir penggunaan Amikasin. Kombinasi amikasin dengan vankomisin atau sefalosporin dapat beresiko meningkatkan toksisitas. Amikasin berinteraksi dengan amfoterisin B, kapreomisin, sefalosporin (generasi 2, 3, 4), cisplatin, *loop* diuretik, anti inflamasi non-steroid (AINS), dan vankomisin, karena dapat meningkatkan kadar atau efeknya, sehingga bisa meningkatkan

toksisitas amikasin. Pemberian amikasin bersama sefalosporin atau AINS beresiko meningkatkan nefrotoksisitas (8,38,39), sedangkan kapreomisin atau vankomisin beresiko meningkatkan nefrotoksisitas dan ototoksisitas (39).

Aminoglikosida digunakan dalam terapi infeksi serius, baik secara empiris maupun definitif (1). Kebijakan penggunaan amikasin di RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta sesuai dengan restriksi nasional, yaitu digunakan untuk infeksi yang disebabkan oleh organisme resisten gentamisin berdasarkan hasil kultur (terapi definitif). Sedangkan amikasin sebagai terapi empiris dapat diberikan atas persetujuan komite PPRA. Hasil penelitian sesuai **Tabel 2** menunjukkan bahwa 35,7% amikasin digunakan untuk terapi empiris, karena pada saat terapi amikasin dimulai belum terdapat hasil kultur bakteri atau hasil kulturnya negatif (kuman tidak tumbuh). Mayoritas amikasin ditujukan sebagai terapi definitif yaitu terdapat pada 56,1% regimen, sedangkan 8,2% merupakan terapi empiris kemudian berubah menjadi definitif karena hasil kultur keluar pada periode terapi amikasin. Dasar pemilihan jenis dan dosis antibiotik empiris adalah data epidemiologi dan pola resistensi bakteri yang tersedia di RS, kondisi klinis, ketersediaan antibiotik, dan kemampuan menembus jaringan/organ terinfeksi (39). Hal tersebut diterapkan juga di RSUP Dr. Sardjito, dimana panduan penggunaan antibiotik (PPAB) empiris dapat diakses dalam sistem informasi manajemen terintegrasi rumah sakit (SIMETRIS) RSUP Dr. Sardjito. Terapi antibiotik empiris diberikan pada kasus infeksi yang belum diketahui jelas jenis kumannya, misal pada kasus gawat karena sepsis atau pasien imuno-kompromais (40). Antibiotik empiris diberikan selama 48-72 jam, kemudian dievaluasi berdasarkan data mikrobiologis, kondisi klinis dan data penunjang (39). Terapi definitif digunakan dalam mengatasi infeksi yang sudah diketahui jenis bakteri penyebab dan pola resistensinya, bertujuan mengeradikasi pertumbuhan bakteri (39,40).

Amikasin mayoritas diadministrasikan melalui rute infus Intra Vena (84,7%), namun dalam catatan medik tidak tercantum lama pemberian infus. Rute secara injeksi IV/IM merupakan terapi pada 2 pasien TB MDR dan 1

pasien ulkus kornea, sedangkan rute IS dan tetes mata semuanya diberikan pada pasien ulkus kornea berat. Aminoglikosida bersifat polar (hidrofilik), sulit menembus membran, absorpsi secara oral buruk (kadar absorpsi sangat rendah sekitar 1%), sehingga diberikan secara parenteral (IM atau IV) dan topikal (2,8,41). Tidak ada aminoglikosida yang diindikasikan diberikan secara IV-bolus, karena khawatir peningkatan kadar puncak tiba-tiba dapat menyebabkan toksisitas, seperti ototoksitas. Laporan terkait penggunaan IV bolus amikasin juga sangat terbatas (42). Pemberian amikasin 7,5mg/kg selama 2 menit pada sukarelawan sehat menghasilkan kadar puncak serum potensial toksik 68-122 µg/mL (43). Rute IV bolus berulang jarang digunakan karena resiko lebih besar, sehingga pemberian secara infus IV konstan dalam waktu pendek (30-60 menit), diulang pada interval waktu tertentu (44). Pemberian amikasin untuk pasien dewasa secara infus IV dengan melarutkan amikasin sulfat dalam NaCl 0,9% atau D5%, kemudian diinfus 30-60 menit (8,16).

Dalam penelitian ini, sebagian besar regimen amikasin diberikan dengan dosis antara 500-1000mg/hari. Berdasarkan berat badan pasien, dosis <15, 15-20, dan >20 mg/kgBB/hari terdapat pada 49, 33, dan 6 regimen (**Tabel 2**). 10 regimen tanpa keterangan dosis semuanya pada pasien ulkus kornea yang diberikan sebagai tetes mata atau IS, karena tidak adanya kejelasan dosis dan sediaan obat yang tertera. *Usual dosage range* amikasin pada pasien dewasa dengan fungsi ginjal normal = 5-7,5 mg/kg/dosis setiap 8 jam, atau 15-20 mg/kg *daily dose*, dosis dapat berbeda untuk indikasi spesifik lain (8). Hasil literatur review menunjukkan *range* dosis amikasin yang diberikan 11-15 mg/kg/hari, dimana 13 dari 17 studi menggunakan dosis 15mg/kg/hari (45). Tidak terdapat perbedaan bermakna pada proporsi dosis amikasin antar kelompok fungsi ginjal, karena dosis <15 maupun ≥15 mg/kgBB/hari lebih banyak persentasenya pada pasien ginjal normal. Hal ini mungkin terkait penyesuaian dosis amikasin pada gangguan ginjal yang dilakukan dengan modifikasi interval pemberian. Apabila pasien gangguan ginjal menggunakan antibiotik *concentration-dependent*, maka penyesuaian dosis secara umum harus dipertahankan dengan memperpanjang interval pemberian. Obat yang sebagian besar

diekskresi melalui ginjal dapat terakumulasi sampai tingkat toksik pada pasien gangguan ginjal, jika dosis atau frekuensi tidak disesuaikan (46).

Berdasarkan **Tabel 2**, amikasin terbanyak (41 regimen) diberikan dalam dosis tunggal harian (tiap 24 jam), disusul setiap 12 dan 8 jam. Amikasin dengan interval setiap 48 jam diberikan pada 4 pasien gangguan ginjal yang memiliki nilai SCr awal tinggi (berkisar 1,41-5,52). Interval lain-lain merupakan amikasin tetes mata dan IS dengan aturan pemberian setiap 15menit-2jam. Dosis tunggal harian memiliki efektivitas sama dibandingkan *multiple dose*, dengan kemungkinan nefrotoksik lebih rendah. Keuntungan *daily dose* adalah mengoptimalkan rasio *Cmax/MIC*, *AUC/MIC*, *PAE*, dan pengurangan biaya (1). Aminoglikosida bersifat *concentration dependent* dan memiliki *postantibiotic effect* (PAE) lama, sehingga pemberian sekali sehari dengan dosis terapi maksimal dapat meningkatkan efikasi, memaksimalkan efek bakterisid dan PAE (46,47). Interval terapi amikasin pada HAP/VAP adalah setiap 24 jam (47). Interval pemberian memiliki proporsi yang berbeda signifikan ($p=0,002$) antara pasien gangguan ginjal dan ginjal normal. Amikasin dengan interval ≤12 jam (*multiple daily dose*) sebagian besar diberikan pada pasien ginjal normal, sedangkan interval >12 jam (*daily dose*) terbanyak pada gangguan ginjal (**Tabel 3**). Hal ini menunjukkan bahwa telah dilakukan upaya penyesuaian interval pemberian amikasin pada sebagian besar pasien gangguan ginjal, namun masih ada sebagian lain yang perlu dievaluasi dosisnya. *General dosing* amikasin diberikan dalam dosis terbagi setiap 8-12 jam, dan modifikasi interval dosis berdasar fungsi ginjal adalah diberikan setiap 8, 12, 24, 48, dan 72 jam berturut-turut untuk pasien dengan CrCl >90mL/min dan berusia <60 tahun, 60-90mL/min atau usia ≥60 tahun, 25-60, 10-25, dan <10mL/min, serta setelah dialisis pada *End Stage Renal Disease* (ESRD).

Durasi pemberian amikasin bervariasi antara 1-19 hari, dan sebagian besar regimen diberikan dalam durasi <7 hari (65,3%), hanya 3 regimen yang diberikan >14 hari. Hal ini sudah baik, karena pengobatan >7 hari berpeluang lebih besar meningkatkan resiko nefrotoksitas (26).

Efek samping dapat meningkat pada durasi terapi >14 hari dan meningkatkan nefrotoksisitas 50% (48). Hasil *Chi-square* diperoleh proporsi durasi pemberian amikasin antara kelompok fungsi ginjal normal dan gangguan ginjal berbeda secara bermakna ($p=0,040$). Proporsi durasi amikasin ≤ 5 hari relatif sama pada kedua kelompok fungsi ginjal, namun pemberian >5 hari jauh lebih besar pada pasien ginjal normal (**Tabel 3**). Hal ini menunjukkan kecenderungan amikasin lebih lama diberikan pada pasien fungsi ginjal normal. Terdapat 14 pasien yang hanya memperoleh Amikasin selama 1-2 hari, semua karena pasien meninggal dunia, mengalami sepsis/syok sepsis ditambah diagnosis lain, dan 7 diantaranya dengan gangguan ginjal. Durasi amikasin paling lama 19 hari, yaitu pada pasien *post* kecelakaan lalu lintas, sebagai terapi definitif untuk indikasi HAP berdasar hasil kultur sputum *A. baumannii* sensitif amikasin. Pasien berusia 20 tahun ini memiliki fungsi ginjal normal dan KRS dengan kondisi membaik.

Pasien yang KRS dengan kondisi tidak membaik pada penelitian ini lebih dominan (42 pasien atau 53%), 41 diantaranya meninggal dunia. Rentang LOS pasien antara 4-63 hari, *median* 22,5 hari dan sebagian besar dirawat inap >15 hari. Hasil tersebut tidak jauh berbeda dengan penelitian pada neonatus dimana 52,1%

memiliki LOS ≥ 10 hari dan 78,9% dengan *clinical outcome* memburuk/meninggal (49). LOS pasien paling singkat adalah 4 hari yaitu pasien dengan diagnosis syok sepsis, CAP, ISK, menderita kanker rektosigmoid T4N0M1 dan CKD, yang baru 1 hari mendapat terapi empiris amikasin kemudian meninggal. LOS paling lama mencapai 63 hari pada pasien *post* kecelakaan lalu lintas, dengan perdarahan otak (EDH, ICH), hipertensi, LTMV, *contusio pulmo*, dan efusi pleura. Pasien dengan fungsi ginjal normal ini mendapat terapi definitif amikasin selama 10 hari untuk indikasi pneumonia bilateral (VAP dengan MDRO), dan pasien KRS dengan kondisi membaik.

Hasil penelitian pada **Tabel 4** menunjukkan bahwa pada pasien dewasa yang mendapatkan terapi amikasin, terdapat hubungan signifikan antara fungsi ginjal dengan kondisi KRS yaitu berupa asosiasi positif ($p=0,003$, OR 4,58), namun tidak signifikan berhubungan dengan lama rawat inap. Hal ini berarti bahwa pasien dengan gangguan ginjal memiliki *odds* 4,58 kali lipat untuk KRS dalam kondisi tidak membaik, dibandingkan pasien ginjal normal. Pasien ginjal normal 59,2% KRS dalam kondisi membaik, sedangkan pasien gangguan ginjal lebih banyak KRS dengan kondisi tidak membaik (75,9%) yaitu meninggal.

Tabel 4. Hubungan Fungsi Ginjal Pasien dengan Kondisi Keluar Rumah Sakit dan LOS

Variabel	Kondisi KRS n (%)		p-Value (Odds Ratio) ^a	Lama Rawat Inap n (%)		p-Value (Odds Ratio) ^a	
	Tidak Membaik	Membaik		≥ 23 hari	< 23 hari		
Fungsi Ginjal ^a	Gangguan Ginjal	20 (40,8)	29 (59,2)	0,003* (4,58)	23 (46,9)	26 (53,1)	0,318
	Ginjal Normal	22 (75,9)	7 (24,1)		17 (58,6)	12 (41,4)	
CrCl ^a	>90 ml/min dan usia <60 tahun	9 (45,0)	11 (55,0)	0,183	14 (70,0)	6 (30,0)	0,178
	>60-90 ml/min atau usia ≥ 60 tahun	13 (44,8)	16 (55,2)		11 (37,9)	18 (62,1)	
	>25-60 ml/min	10 (62,5)	6 (37,5)		8 (50,0)	8 (50,0)	
	<25 ml/min	10 (76,9)	3 (23,1)		7 (53,8)	6 (46,2)	

Keterangan: KRS = keluar rumah sakit, CrCl = creatinine clearance, ^a = Berdasarkan hasil uji *Chi-square*, * = Berbeda signifikan secara statistik ($p\text{-value} < 0,05$)

Hubungan fungsi ginjal dengan LOS sebenarnya juga memperlihatkan tren yang sama dengan kondisi KRS, namun persentasenya tidak berbeda jauh antar kelompok. Nilai CrCl juga tidak memiliki hubungan bermakna terhadap kondisi

KRS dan LOS. Kondisi pasien dengan CrCl >60mL/min terlihat lebih banyak yang membaik, kemudian seiring menurunnya CrCl, persentase pasien yang tidak membaik semakin besar. Sedangkan LOS pasien cukup bervariasi

proporsinya antar kelompok. Pada CrCl >90mL/min, 70,0% pasien dirawat inap \geq 23 hari, sedangkan pasien dengan CrCl <90mL/min lebih banyak yang <23 hari. Mengingat rata-rata kondisi pasien mengalami penyakit serius, hasil tersebut mungkin menunjukkan bahwa pasien dengan CrCl yang masih baik dan berusia <60 tahun, dapat bertahan lebih lama dibandingkan pasien dengan nilai CrCl rendah. Pasien dengan LOS singkat belum tentu KRS dalam kondisi membaik, begitu pula sebaliknya. Hal ini terbukti pada pasien dengan LOS paling singkat (4 hari) yang KRS karena meninggal, sedangkan pasien dengan LOS terlama (63 hari) KRS dengan kondisi membaik. Pada pasien dengan penurunan GFR, SCr akan terakumulasi sesuai derajat kerusakan ginjal, sehingga nilai CrCl bisa digunakan sebagai parameter pemantauan fungsi ginjal dan penyesuaian dosis (30,50). Amikasin tidak mengalami metabolisme dan cepat diekskresi bersama urin (94-95%). Waktu paruh pada ginjal normal sekitar 2 jam (1,4-2,3 jam) sedangkan pada pasien anuria dan ESRD mencapai 28-86 jam. $T_{1/2}$ pada pasien dengan nilai ClCr 30-50, 10-30, <10, hemodialisis berturut-turut 7,3; 16,0; 31,6; 85 jam, sehingga dosis perlu disesuaikan (8,51). Berdasarkan hasil penelitian secara keseluruhan, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait evaluasi dosis amikasin berdasar fungsi ginjal pasien.

Kesimpulan

Profil penggunaan Amikasin pada pasien dewasa rawat inap di RSUP Dr. Sardjito tahun 2020 sebagian besar sebagai terapi definitif, dalam kombinasi dengan antibiotik lain, rute IV infus, serta median dosis 14,3mg/kgBB/hari, interval 12,0 jam, dan durasi 5,0 hari. Proporsi nilai CrCl, jenis infeksi, komorbid (CVD/DM), interval dan durasi pemberian amikasin berbeda signifikan antara pasien dengan ginjal normal dan gangguan ginjal. Fungsi ginjal pasien berhubungan signifikan berupa asosiasi positif dengan kondisi keluar rumah sakit, namun tidak berkorelasi dengan lama rawat inap. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi ketepatan dosis amikasin berdasarkan fungsi ginjal pasien, serta korelasinya dengan outcome klinis dan toksisitasnya.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah mendanai penelitian ini melalui hibah PDD tahun 2021. Terima kasih kepada dr. Intan Pristian Yuliyani dan Istiana Muflihah yang telah membantu proses pengambilan data di RS.

Referensi

1. Avent ML, Rogers BA, Cheng AC, Paterson DL. Current use of aminoglycosides: indications, pharmacokinetics, and monitoring for toxicity: Aminoglycosides: review and monitoring. *Internal Medicine Journal*. 2011; 41:441-449
2. Krause KM, Serio AW, Kane TR, Connolly LE. Aminoglycosides: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016; 6:1-18.
3. Pratiwi TA. Evaluasi Pendosisan Aminoglikosida terhadap Efektivitas dan Fungsi Ginjal pada Pasien dengan Gangguan Ginjal Kronis. (Tesis). Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM; 2018
4. Zazo H, Martín-Suárez A, Lanao JM. Evaluating amikacin dosage regimens in intensive care unit patients: A pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis using Monte Carlo simulation. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2013; 42: 155-160
5. Petitcollin A, Dequin PF, Darrouzain F, Vecellio L, Boulain T, Garot D, et al. Pharmacokinetics of high-dose nebulized amikacin in ventilated critically ill patients. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2016; 71:3482-3486
6. PIONAS. *Informatorium Obat Nasional Indonesia*. Jakarta: Pusat Informasi Obat Nasional, Badan Pengawas Obat dan Makanan; 2015. Diakses online 15 Januari 2022 di: <https://pionas.pom.go.id/ioni/monografi/amikasin>
7. Kemenkes RI. *Formularium Nasional, Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor HK.01.07/MENKES/659/2017*. Jakarta:

- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2017
8. Dana WJ, Fuller MA, Goldman MP, Golembiewsky JA, Gonzales JP, Lowe JF, and Snoke J. *Drug Information Handbook*, 22nd edition. Ohio: Lexicomp; 2013
 9. Nezic L, Derungs A, Bruggisser M. Therapeutic Drug Monitoring of Once Daily Aminoglycoside Dosing: comparison of two methods and investigation of the optimal blood sampling strategy. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 2014; 70(7): 829-837
 10. Corbett AH, Golembiewsky JA, Gonzales JP, Johnson S, Lowe JF, Rybaczyk A, Snoke J. *Drug Information Handbook*, 26th edition. United States: Wolters Kluwer, Inc; 2017
 11. Sweetman S. *Martindale: The Complete Drug Reference*, 36th ed. Pharmaceutical Press; 2009
 12. Pacifici GM, Pacifici GM. Clinical Pharmacokinetics of aminoglycoside in the neonate: a review. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 2010; 65: 419-427
 13. Lewis JS, Bush K. *Antibacterial Agents*, in Jorgensen JH, et al. *Manual of Clinical Microbiology*, 11th ed. John Wiley&Sons, Inc; 2015. p.1169-1211.
 14. Doogue MP, Polasek TM. Drug Dosing in Renal Disease. *Clin Biochem Rev*. 2011; 32: 69-73
 15. Whalen K, Field C, Radhakrisnan R. *Lippincott Illustrated Reviews: Pharmacology*, 7th ed. Wolters Kluwer; 2019
 16. Medscape. *Amikacin (Rx) Administration*; 2020. Diakses online 09 Februari 2020 di <https://reference.medscape.com/drug/amikacin-342516#11>
 17. Jatmiko TP. Evaluasi rasionalitas penggunaan antibiotik untuk terapi infeksi di bangsal rawat inap penyakit dalam RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta. (Tesis). Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM; 2011
 18. Katarnida SS, Dewi M, Yusticia K. Evaluasi Penggunaan Antibiotik Secara Kualitatif di RS Penyakit Infeksi Suliarti Saroso, Jakarta. *Sari Pediatri*. 2014; 15
 19. Marsono Y. Evaluasi Penggunaan Antibiotik Pada Pasien Pneumonia Dengan Metode Gyssens Di Instalasi Rawat Inap Rumah Sakit Umum Dokter Moewardi Surakarta Tahun 2013. (Skripsi). Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2015
 20. Sugiyono. Evaluasi Kesesuaian Antibiotik Definitif terhadap Clinical Outcome dan Gambaran Antibiogram pada Pasien Ulkus Diabetik di RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta. (Tesis). Yogyakarta: S2 Ilmu Farmasi UGM; 2016
 21. Manik MPL. Analisis Pola Resistensi dan Evaluasi Penggunaan Antibiotik Empiris serta Analisis Biaya pada Pasien Pneumonia Nosokomial di Ruang ICU RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta. (Tesis). Yogyakarta: Program S2 Ilmu Farmasi UGM; 2018
 22. Cahyani RD. Evaluasi Penyesuaian Dosis Antibiotik Pada Pasien Geriatri Dengan Chronic Kidney Disease. (Skripsi). Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM; 2019
 23. Joy MS, Kshirsagar A, Franceschini N. *Chronic Kidney Disease: Progression-Modifying Therapies*, in DiPiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM, *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*, 7th Edition. New York: McGraw Hill Inc; 2008. p.745-763
 24. DiPiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, 7th ed. USA: McGraw Hill Companies; 2008
 25. National Kidney Disease Education Program. *CKD & Drug Dosing: Information for Providers*, NIDDK; 2015. Diakses online 16 Maret 2018 di: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/professionals/clinicaltools/patient-education-outreach/ckd-drug-dosing-providers>
 26. Lovering AM, Reeves DS. *Aminoglycoside and Aminocyclitols*; 2003. p.145-159
 27. Ruiz J, Ramirez P, Company MJ, Gordon M, Villarreal E, Concha P, et al. Impact of amikacin pharmacokinetic/pharmacodynamic index on treatment response in critically ill patients. *Journal of Global Antimicrobial*

- Resistance*. 2018; 12: 90–95
28. Boidin C, Bourguignon L, Cohen S, Roger C, Lefrant J-Y, Roberts JA, et al. Amikacin initial dose in critically ill patients: a nonparametric approach to optimize a priori pharmacokinetic/pharmacodynamic target attainments in individual patients. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019; 63: e00993-19.
 29. Aliska G, Setiabudy R, Purwastyastuti, Karuniawati A, Sedono R, Dewi TU, Azwar MK. Optimal Amikacin Levels for Patients with Sepsis in Intensive Care Unit of Cipto Mangunkusumo Hospital, Jakarta, Indonesia. *Acta Med Indones - Indones J Intern Med*. 2017; 49(3): 227-235
 30. Getachew H, Tadesse Y, Shibeshi W. Drug dosage adjustment in hospitalized patients with renal impairment at Tikur Anbessa specialized hospital, Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Nephrology*. 2015; 16(158): 1-9
 31. PERNEFRI. *Program Indonesia Renal Registry*, 5th Report of Indonesian Renal Registry; 2012
 32. Siblinger SR, Neugarten J. The Impact of Gender on the Progression of Chronic Renal Disease. *American Journal of Kidney Disease*. 1995; 25(4): 515- 533
 33. D'Arcy DM, Casey E, Gowing CM, Donnelly MB, Corrigan OI. An open prospective study of amikacin pharmacokinetics in critically ill patients during treatment with continuous venovenous haemodiafiltration. *BMC Pharmacology and Toxicology*. 2012; 13(14)
 34. Magnet S, Blanchard JS. Molecular Insight into Aminoglycoside Action and Resistance. *Chem. Rev*. 2005; 105(2): 477-498
 35. Chittapragada M, Robert S, Ham YW. Aminoglycosides: Molecular insights on the Recognition of RNA and Aminoglycoside Mimics. *Perspectives in Medicinal Chemistry*. 2009; 3: 21–37
 36. Roger C, Wallis SC, Muller L, Saissi G, Lipman J, Lefrant JY, et al. Influence of Renal Replacement Modalities on Amikacin Population Pharmacokinetics in Critically Ill Patients on Continuous Renal Replacement Therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2016; 60: 4901–4909
 37. Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M. *Buku Ajar: Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: FKUI; 2006
 38. Tatro DS. *Drug Interaction Facts, The Authority on Drug Interactions*. California: Wolters Kluwer; 2012
 39. Kemenkes RI. *Pedoman Pelayanan Kefarmasian Untuk Terapi Antibiotik*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2011
 40. Carlet J, Jarlier V, Harbarth S, Voss A, Goosens H, Pittet D. Ready for a World Without Antibiotics? The Penalties Antibiotic Resistance Call to Action. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 2012; 1(11): 1-13
 41. Craig WA. Optimizing Aminoglycoside Use. *Critical care clinics*. 2011; 27: 107-121
 42. Spencer S, Ipema H, Hartke P, Krueger C, Rodriguez R, Gross AE, Gabay M. Intravenous Push Administration of Antibiotics: Literature and Considerations. *Hospital Pharmacy*. 2018; 1–13
 43. Yates RA, Mitchard M, Wise R. Disposition studies with amikacin after rapid intravenous and intramuscular administration to human volunteers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1978; 4: 335-341
 44. Wahyono D. *Farmakokinetika Klinik: Konsep Dasar Dan Terapan Dalam Farmasi Klinik*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 2013
 45. Jenkins A, Thomson AH, Brown NM, Semple Y, Sluman C, MacGowan A, et al. Amikacin Use and Therapeutic Drug Monitoring in adults: Do dose regimens and drug exposures affect either outcome or adverse events? A systematic review. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2016; 71(10): 2754-259
 46. Stein SM. *BOH'S Pharmacy Practice Manual*, Third Ed. Philadelphia: Wolters Kluwer-Lippincott William&Wilkins; 2010
 47. Kalil A, Metersky M, Klompas M, Muscedere J. Management of Adults with Hospital-

- acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Oxford University Press for the Infectious Diseases Society of America*. 2016; 63: e61–e111.
48. Denamur S, Boland L, Beyaert M, Verstraeten SL, Fillet M, Tulkens PM, et al. Subcellular mechanisms involved in apoptosis induced by aminoglycoside antibiotics: insight on p53, proteasome and endoplasmic reticulum. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2016; 309: 24-36
49. Pramono ZD. Evaluasi Kesesuaian Dosis dan Clinical Outcome Amikasin dan Gentamisin di NICU (Neonatal Intensive Care Unit) RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta. *Tesis*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM; 2020
50. Shargel L, Yu ABC. *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*, 7th Ed. New York: McGraw-Hill; 2016
51. Blot SI, Pea F, Lipman J. The effect of pathophysiology on pharmacokinetics in the critically ill patient — Concepts appraised by the example of antimicrobial agents. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2014; 77: 3–11