



VOLUME 3 NOMOR 2
DESEMBER TAHUN 2020

Jurnal Farmasi Medica

Pharmacy Medical Journal



PMJ | Vol. 3 | No. 2 | Hal 40 - 75 | 2020

ISSN : 2622-9463 | e ISSN : 2654-640X

Program Studi Farmasi
Fakultas Matematika dan
Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sam Ratulangi

TEA BIOACTIVE COMPOUNDS AS INHIBITOR OF MRSA PENICILLIN BINDING PROTEIN 2a (PBP2a): A MOLECULAR DOCKING STUDY**Marko Jeremia Kalalo^{1*)}, Fatimawali¹⁾, Tekla Kalalo²⁾, Christani Imanuel Jabriel Rambli³⁾**

¹⁾Pharmacy Study Program, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Sam Ratulangi, Manado 95115, Indonesia

²⁾Pharmaceutics Department, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya 60115, Indonesia

³⁾Apothecary Education Program, School of Pharmacy, Semarang Yayasan Pharmacy Pharmacy College, Semarang 50192, Indonesia

*Corresponding Author: markojeremiakalalo@gmail.com

ABSTRACT

Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a hypervirulent multidrug-resistant bacteria. It is spreading around the globe and starting to be a global health problem. It causes bacteremia, infective endocarditis, and bloodstream infection. PBP2a is a protein responsible for MRSA's resistance to antibiotics, especially beta-lactams. Tea contains bioactive compounds such as polyphenols. It is known to have great antibacterial activities. Therefore, this study aims to find potentials antibacterial compounds from tea polyphenols that can inhibit PBP2a in MRSA with better binding energy than the currently available drugs using the molecular docking approach. We found that theaflavin (-9,7 kcal/mol), as one of the tea polyphenols compound, has a better binding energy with ceftaroline (9,5 kcal/mol) therefore predicted to have better antibacterial activity. (-)-Epigallocatechingallate (-9,1 kcal/mol), (-)-epicatechingallate (-8,8 kcal/mol), myricetin (-8,7 kcal/mol), quercetin (-8,5 kcal/mol), (-)-epicatechin (-8,3 kcal/mol), (-)-epigallocatechin (-8,3 kcal/mol), kaempferol (-8,3 kcal/mol), procyanidin B2 (-8,1), and theflavindigallate (-7,6 kcal/mol) also have the potential to inhibit MRSA due to its low binding energy.

Key words : Molecular docking, MRSA, PBP2a, Tea polyphenols.

INTRODUCTION

Methicillin - Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. It is a hypervirulent bacteria that can also be acquired in the community. It is known to spread in the United States years ago. Recently, it has been widespread around the globe. Recent studies have detected MRSA infection in Europe, South America, Asia Pacific (Strauß et al., 2017), Asia, and Africa (Marchello et al., 2020).

MRSA is a pathogen that can cause bacteremia, infective endocarditis, and bloodstream infection. MRSA incidences are found to be increasing in many regions, and it is now one of the leading causes of infective endocarditis in many countries and regions in the world. Strict policies of many countries have regulated the use of antibiotics to treat MRSA. Due to the very few drugs available to treat MRSA, strict policy implementation is applied to maintain its susceptibility (Asgeirsson et al., 2017).

MRSA is hard to treat due to its resistance to all beta-lactam antibiotics. An appropriate resistance mechanism needs to be explored in order to design new potential drugs to treat it. PBP2a is known as a protein responsible for MRSA resistance to antibiotics, especially beta-lactams. It is a protein encoded by a drug-resistant strain contains in a SCCmec box. It shows a low affinity to all beta-lactam antibiotics. To treat MRSA with beta-lactam antibiotics alone is facing severe challenges and difficulties. Inhibiting PBP2a can reverse its antibiotic resistance and kill the bacteria (Bao et al., 2020).

Medicinal plants are known to possess a great potential as antibacterial drugs (Ogunyemi et al., 2019; Danish et al., 2020; Soyngbe et al., 2018). Tea contains bioactive compounds such as

polyphenols. It is known to have great antimicrobial activities. Theaflavin, (-)-epigallocatechingallate, (-)-epicatechingallate, myricetin, quercetin, (-)-epicatechin, (-)-epigallocatechin, kaempferol, procyanidin b2, theaflavindigallate are found to be the polyphenols in tea (Yang et al., 2014).

This study aims to find potentials antibacterial compounds from tea polyphenols that can inhibit PBP2a in MRSA with better binding energy than the currently available drugs using molecular docking approach.

MATERIALS AND METHODS

Ligands Preparations

The tea polyphenols known from the previous study (Yang et al., 2014) were searched in Pubchem. The 3D structure was then downloaded with its Pubchem Compound ID was listed in table 1. The ligands' energy was minimized and then converted to autodock PDBQT format using Pyrx.

Receptor Preparations

PBP2a structured retrieved from Protein Data Bank (PDB : 3ZFZ). The receptor first cleaned from water molecules and its native ligands using Biovia Discovery Studio Visualizer and then optimized using Pyrx.

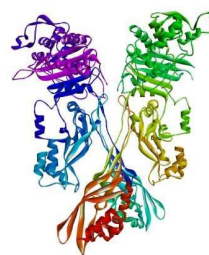


Figure 1. PBP2a (PDB: 3ZFZ) protein structure

Receptor-Ligand docking

Molecular docking was carried out using Pyrx-vina. Ligands and receptor previously optimized were selected, grid box used for this study are optimized around the active Ser403. Its dimensions were X: 30 Å, Y: 40 Å, Z: 30 Å.

All the processes were carried

out using a computer with Intel(R) Celeron(R) N4000 CPU @1.10GHz processor, 4Gb RAM, 64-bit operation system.

Analysis and Visualization

Analysis and visualization of the ligand and receptor interaction were carried out using Biovia Discovery Studio Visualizer v20.1.0.19295. Both 2D and 3D ligand-receptor interaction visualized from molecular docking output file. The output file split first using vina split and command prompt by typing the command: vina_split – input (output file name).pdbqt.

The type of bondings was observed in the 2D diagram of the visualization result. Residues involved in the interaction were observed.

RESULTS AND DISCUSSION

Molecular docking has been widely used in order to design new drugs for a specific purpose. Binding energy result of ligands and MRSA PBP2 presented in Table 1. All tea polyphenols have great binding energy to PBP2a. Molecular docking analyzes molecular interactions between ligands and a specific receptor (Ahmed et al., 2019).

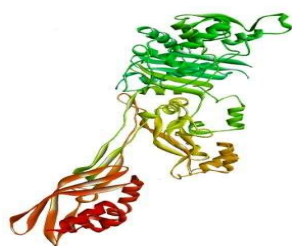


Figure 2. PBP2a A chain

The protocol was validated by measuring its RMSD value. In this research, the RMSD value of all ligands is 0Å. This value determines two atoms similarity pose. The RMSD from this research suggests the method is valid and can further be used (Kufareva and Abagyan, 2012).

Theaflavin has the best binding energy of all the ligands and control

drug ceftaroline. A better ligand-receptor interaction pose was found in theaflavin- PBP2a than ceftaroline PBP2a. It predicted that theaflavin would have a better antibacterial activity against MRSA than ceftaroline.

Theaflavin is a product of catechin oxidation process. It has significant antibacterial properties against different bacterial pathogens at varying concentrations. Catechins are found in green tea and black tea, being the major compound of both plants. It has great bioavailability in both urine and plasma suggest it is a potential compound to develop as a drug. Goswami et al. (2020) showed that compounds in black tea inhibited several bacteria. The MIC of black tea extract was found to be 14.72 mg/ml, 3.68 mg/ml, 1.42 mg/ml, 3.68 mg/ml, and 14.72 mg/ml against *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Streptococcus mutans* (MTCC 497), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), and *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 43121) respectively.

Table 1. Cefaroline and tea polyphenols binding energy to PBP2a (PDB: 3ZFZ)

Ligand	Pubchem CID	PBP2a Binding Energy (kcal/mol)
Cefaroline	9852981	-9,5
Theaflavin	114777	-9,7
(-)-Epigallocatechingallate	65064	-9,1
(-)-Epicatechingallate	107905	-8,8
Myricetin	5281672	-8,7
Quercetin	5280343	-8,5
(-)-Epicatechin	72276	-8,3
(-)-Epigallocatechin	72277	-8,3
Kaempferol	5280863	-8,3
Procyanidin B2	122738	-8,1
Theaflavindigallate	44448535	-7,6

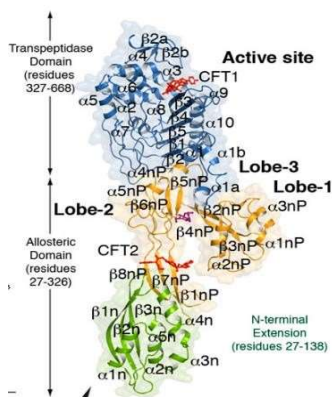


Figure 3. PBP2a active site located at the A chain of the protein inhibited by ceftaroline (red sticks in blue domain) in transpeptidase domain (Otero et al., 2013)

PBP2a is responsible for human pathogen *S. aureus* resistance to beta-lactam class of antibiotics (Alhadrami et al., 2020). Inhibition in the protein's active site leads to deactivation of the protein, making it unable to do a crosslink reaction with peptidoglycan to form a rigid bacteria cell wall. The active site located in the transpeptidase domain suggests that a ligand binds to this active site can stop the cell wall synthesis and further kill the bacteria (Otero et al., 2013). The active site is shown in Figure 3.

3D and 2D interactions are shown in Figure 4. and Figure 5. 3D interaction shows both ceftaroline and theaflavin binds to the same pocket of PBP2a. 2D interaction shows amino acids or residues that interact with ligands. Both ceftaroline and theaflavin interact with residues in the transpeptidase domain (residues 327-668). It suggests both compounds can bind to PBP2a active site and stop cell wall synthesis.

Theaflavin interacts with the active site by conventional hydrogen bonds, pi-donor hydrogen bonds, pi-pi stack, pi-pi T shaped, pi-alkyl, unfavorable donor-donor, and unfavorable acceptor-acceptor.

Molecular docking results found to be linear with in-vitro results suggest

that ligands with low binding energy with a receptor may have activity using in vitro testing (Cortes et al., 2020).

These results can predict that tea polyphenols can inhibit MRSA by deactivation of PBP2a and stop the cell wall synthesis process.

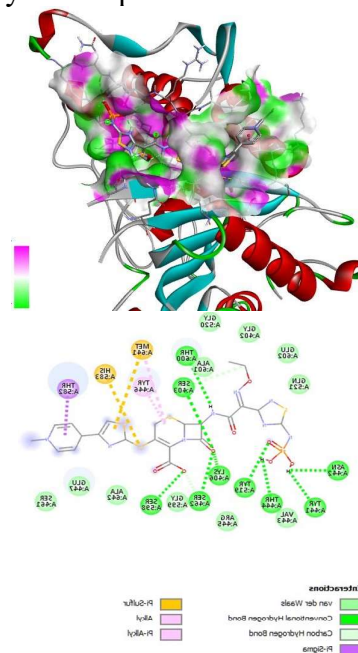


Figure 4. (A) Ceftaroline docking position to PBP2a. (B) 2D diagram interaction of Ceftaroline-PBP2a.

(-) - Epigallocatechingallate, (-) - epicatechingallate, myricetin, quercetin, (-) - epicatechin, (-) - epigallocatechin, kaempferol, procyanidin B2, and theflavindigallate also have binding energies lower than -6 kcal/mol suggest it have great bindings with PBP2a and can be considered a potential compounds to design new antibacterial drug targeting MRSA (Sachdeva et al., 2020).

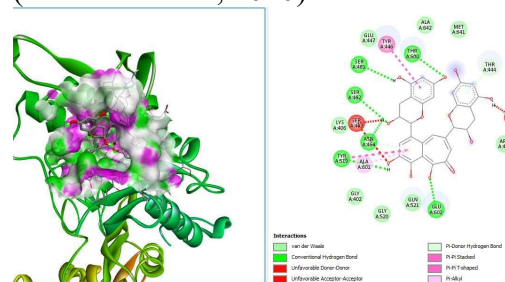


Figure 5. (A) Theaflavin 3D structure dock to PBP2a. (B) Theaflavin-PBP2a interaction in 2D diagram.

CONCLUSION

Molecular docking study of this research predicted polyphenols contain in tea can inhibit MRSA by binds to PBP2a active site and stop the bacteria cell wall synthesis. Theaflavin has better binding energy with ceftaroline, therefore predicted to have better antibacterial activity. (-)-Epigallocatechingallate, (-)-epicatechingallate, myricetin, quercetin, (-)-epicatechin, (-)-epigallocatechin, kaempferol, procyanidin B2, and theflavindigallate also have the potential to inhibit MRSA due to its low binding energy.

REFERENCE

- Ahmed, S., A. Rakib, M. Islam, B. Khanam, F. Faiz, A. Paul, M. Chy, N. Bhuiya, M. Uddin, S. Ullah, M. Rahman, & T. Emran. 2019. In Vivo and In Vitro Pharmacological Activities of *Tacca integrifolia* Rhizome and Investigation of Possible Lead Compounds Against Breast Cancer Through in Silico Approaches. *Clinical Phytoscience*, 5(1).
- Alhadrami, H. A., Hamed, A. A., Hassan, H. M., Belbahri, L., Rateb, M. E., & Sayed, A. M. (2020). Flavonoids as potential anti-MRSA agents through modulation of PBP2A: A computational and experimental study. *Antibiotics*, 9(9), 1–16.
- Asgeirsson, H., Thalme, A., & Weiland, O. (2017). *Staphylococcus aureus* bacteraemia and endocarditis – epidemiology and outcome: a review *Staphylococcus aureus* bacteraemia and endocarditis – epidemiology and outcome: a review. *Infectious Diseases*, 0(0), 1–18.
- Bao, M., Zhang, L., Liu, B., Li, L., Zhang, Y., Zhao, H., Ji, X., Chen, Q., Hu, M., Bai, J., Pang, G., Yi, J., Tan, Y., & Lu, C. (2020). Synergistic effects of anti-MRSA herbal extracts combined with antibiotics. *Future Microbiology*, 15(13), 1265–1276.
- Cortes, E., Mora, J., & Márquez, E. (2020). Modelling the anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) activity of cannabinoids: A QSAR and docking study. *Crystals*, 10(8), 1–20.
- Danish, P., Ali, Q., Mm, H., & Malik, A. (2020). Antifungal And Antibacterial Activity Of Aloe Vera Plant Extract. *Biological and Clinical Sciences Research Journal*. 1-8.
- Goswami, P., & Kalita, C. (2020). Antibacterial Activity of Black Tea Extract against *S. mutans*, *S. aureus*, *L. acidophilus*, *Klebsiella* and *E. coli*. *J. Evolution Med. Dent. Sci*; 9(1):18-22.
- Kufareva, I. and R. Abagyan. 2012. Methods of protein structure comparison. *Methods Mol Biol*, 857:231–257.
- Marchello, C. S., Dale, A. P., Pisharody, S., Rubach, M. P., & Crump, A. (2020). crossm A Systematic Review and Meta-analysis of the Prevalence of Community-Onset Bloodstream Infections among Hospitalized Patients in Africa and Asia. 64(1), 1–16.
- Otero, L. H., Rojas-Altuve, A., Llarull, L. I., Carrasco-López, C., Kumarasiri, M., Lastochkin, E., Fishovitz, J., Dawley, M., Heseck, D., Lee, M., Johnson, J. W., Fisher, J. F., Chang, M., Mobashery, S., & Hermoso, J. A. (2013). How allosteric control of *Staphylococcus aureus* penicillin binding protein 2a enables methicillin resistance and

- physiological function. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 110(42), 16808–16813.
- Oyedemi, B. O. M., Oyedemi, S. O., Swain, S. S., Prieto, J. M., & Stapleton, P. (2020). Bactericidal and antibiotic-modulation activities of methanol crude extracts of *Ligustrum lucidum* and *Lobelia inflata* against MRSA phenotypes: Molecular docking studies of some isolated compounds from both plants against DNA gyrase A. *South African Journal of Botany*, 130, 54–63.
- Sachdeva, C., Wadhwan, A., Kumari, A., Hussain, F., Jha, P., Kaushik, N.K. 2020. In Silico Potential of Approved Antimalarial Drugs for Repurposing Against COVID-19. *OMICS A Journal of Integrative Biology*. 24(10): 568-580.
- Soyingbe, O. S., Mongalo, N. I., & Makhafola, T. J. (2018). In vitro antibacterial and cytotoxic activity of leaf extracts of *Centella asiatica* (L.) Urb, *Warburgia salutaris* (Bertol. F.) Chiov and *Curtisia dentata* (Burm. F.) C. A. Sm - medicinal plants used in South Africa. 3, 1–10.
- Strauß, L., Stegger, M., Eberechi, P., Alabi, A., Breurec, S., & Coombs, G. (2017). Origin, evolution, and global transmission of community-acquired *Staphylococcus aureus* ST8. 1–9.
- Yang, Z. F., Bai, L. P., Huang, W. B., Li, X. Z., Zhao, S. S., Zhong, N. S., & Jiang, Z. H. (2014). Comparison of in vitro antiviral activity of tea polyphenols against influenza A and B viruses and structure-activity relationship analysis. *Fitoterapia*, 93, 47–53.

PENGARUH LAMA PENYIMPANAN EKSTRAK DAUN GEDI MERAH TERHADAP KANDUNGAN TOTAL FLAFONOID**Thomas Pelloan^{1*)}, Hindang Kaempe¹⁾**¹⁾Jurusan Farmasi FMIPA – Universitas Kristen Indonesia Tomohon

*Corresponding author email: thomaspelloan@yahoo.com

ABSTRACT

Trying to develop traditional medicine so that it can be in line with modern medicine. Various researches and developments that take advantage of technological advances are carried out as an effort to improve the quality and safety of products which are expected to further increase confidence in the benefits of medicines derived from nature. This study aims to determine the total content of polyphenols in red gedi leaves, fresh simplicia and dry simplicia and to determine the effect of storage time on the total polyphenol content. This study used a laboratory experimental method with hot extraction (infundation method) using water as a solvent. The filtrate obtained is then concentrated on a rotary evaporator. After testing, the results showed that the highest total flavonoid content was found in fresh red Gedi leaf extract (1686.5 mg / Kg), followed by dry Gedi Merah leaf extract (1666 mg / Kg). As for the infusion of fresh Gedi Merah leaves (1002 mg / Kg) and dry Gedi Merah leaf infusion (518.5 mg / Kg). while the highest total tannin content was found in dry Gedi Merah leaf extract (7779 mg / Kg), followed by fresh Gedi Merah leaf extract (3084 mg / Kg). As for the infusion of dry Gedi Merah leaves (1429 mg / Kg) and fresh Gedi Merah infusion (499 mg / Kg). Besides that, it is also known that the storage time for the infusion and extract of Gedi Merah leaves has a great effect on the total polyphenol content.

Keywords : polyphenol, red gedi, extract.**ABSTRAK**

Pengembangan Obat tradisonal diusahakan agar dapat sejalan dengan pengobatan modern. Berbagai penelitian dan pengembangan yang memanfaatkan kemajuan teknologi dilakukan sebagai upaya peningkatan mutu dan keamanan produk yang diharapkan dapat lebih meningkatkan kepercayaan terhadap manfaat obat yang berasal dari alam. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan total polifenol yang terdapat pada daun gedi Merah simplicia segar dan simplicia kering serta mengetahui pengaruh lama penyimpanan terhadap kandungan total polifenol. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen laboratorium dengan ekstraksi cara panas (metode infundasi) dengan menggunakan pelarut air. Filtrat yang didapat kemudian dipekatkan pada *rotary evaporator*. Setelah dilakukan pengujian maka didapatkan hasil bahwa kandungan total flavonoid tertinggi terdapat pada ekstrak daun Gedi merah segar (1686.5 mg/Kg), diikuti dengan ekstrak daun Gedi Merah kering (1666 mg/Kg). Sedangkan untuk infus daun Gedi Merah segar (1002 mg/Kg) dan infus daun Gedi Merah kering (518.5 mg/Kg). sedangkan Kandungan total tanin tertinggi terdapat pada ekstrak daun Gedi Merah kering (7779 mg/Kg), diikuti dengan ekstrak daun Gedi Merah segar (3084 mg/Kg). Sedangkan untuk infus daun Gedi Merah kering (1429 mg/Kg) dan infus daun Gedi Merah segar (499 mg/Kg). selain itu diketahui juga lama penyimpanan terhadap infus dan ekstrak daun Gedi Merah memiliki pengaruh yang besar terhadap kandungan total polifenol.

Kata kunci : polifenol, gedi merah, ekstrak.

PENDAHULUAN

Gedi merupakan tanaman yang sudah banyak dikenal oleh masyarakat lebih khusus penduduk Sulawesi Utara. Selain digunakan sebagai bahan makanan tanaman Gedi Merah juga digunakan sebagai Obat. Penelitian-penelitian yang telah dilakukan membuktikan bahwa daun gedi memiliki banyak khasiat seperti antidiabetes, dimana pada penelitian yang dilakukan oleh Mercedes (2017) membuktikan bahwa ekstrak daun gedi merah dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus yang diinduksi streptozotocin. Penelitian dari Nurjanah (2016) membuktikan juga bahwa ekstrak daun gedi merah dapat menurunkan tekanan darah pada tikus yang diinduksi prednisone dan garam pada hari ke-21.

Aktivitas biologis yang ditimbulkan oleh ekstrak gedi merah pada penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak gedi merah mengandung metabolit-metabolit sekunder yang mempunyai peranan penting dalam tubuh. Aktivitas biologis dari ekstrak gedi merah yang dibuktikan lewat penelitian yang telah ada merupakan salah satu dasar untuk dapat mengembangkan ekstrak gedi merah menjadi salah satu produk herbal berkhasiat.

Pengembangan Obat tradisional diusahakan agar dapat sejalan dengan pengobatan modern. Berbagai penelitian dan pengembangan yang memanfaatkan kemajuan teknologi dilakukan sebagai upaya peningkatan mutu dan keamanan produk yang diharapkan dapat lebih meningkatkan kepercayaan terhadap manfaat obat yang berasal dari alam. Banyak penelitian yang telah dilakukan dengan pembuatan ekstrak tumbuhan berkhasiat obat yang dilanjutkan dengan mengisolasi untuk standarisasi kandungannya dengan tujuan memelihara keseragaman mutu, keamanan dan khasiatnya. Pengembangan obat tradi-

sional juga didukung oleh Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia, tentang fitofarmaka, yang berarti diperlukan adanya pengendalian mutu simplisia yang akan digunakan untuk bahan baku obat (BPOM, 2005).

Kandungan bahan aktif yang terdapat pada tanaman sangat dipengaruhi oleh proses penyimpanan dan pemanasan. Penyimpanan ekstrak yang terlalu lama dapat menurunkan mutu karena dapat merusak komponen-komponen yang terdapat di dalamnya dan terjadi penguraian pada saat penyimpanan. Sedangkan pada pemanasan yang berlebih senyawa yang terkandung dalam bahan akan terurai.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jumlah kandungan total polifenol dari simplisia segar dan simplisia kering Gedi Merah yang dibuat dibuat infus dengan penyimpanan selama 20 hari

METODE PENELITIAN

Alat. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Spektrofotometer (Thermo Genesys 20), Rotary Evaporator (IKA ® RV 10), oven (Memmert), timbangan analitik (AND), timbangan ohaus, gelas Ukur, gelas beaker, erlenmeyer, tabung reaksi, hot plate (IEC), vorteks mixer (Mixer VM 300), mikropipet, batang pengaduk, termometer, toples, gunting, pipet, aluminium foil, kain kasa, serbet, tissue dan camera (Lumix Panasonic).

Bahan Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L). Bahan kimia yang digunakan berkualifikasi pro analys (p.a) yaitu NaNO₂, aluminium klorida, NaOH, vanillin 4 %, dan HCL pekat. dan Aquades.

Ekstraksi

Sampel daun Gedi Merah Segar. Sebanyak 50 gram daun Gedi Merah segar bersih dimasukkan kedalam gelas beker pada 250 ml air. Kemudian sam-

pel dipanaskan pada hot plate untuk dibuat infus selama 15 menit sampai mendidih. selanjutnya didiamkan selama 15 menit dan disaring. Filtrat yang didapat dari proses penyaringan diukur kembali volumenya, kemudian ditambahkan dengan air sampai mencapai volume 250 ml. Dari filtrat yang diperoleh, 230 ml dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporatory* pada suhu 40 – 60 °C selama 210 menit, dan sisanya sebanyak 20 ml infus disimpan untuk dibaca pada spektrofotometer Uv-Vis secara bersama-sama dengan ekstrak hasil evaporasi.

Sampel daun Gedi Merah Kering.

Daun Gedi Merah yang telah bersih dikeringkan pada oven dengan suhu 50⁰ C selama 22 jam. simplisia kering Gedi Merah yang telah tersedia lalu dibuat infus sebanyak 50 gram pada 250 ml air dan dipanaskan pada hot plate pada suhu 90 °C selama 15 menit kemudian didiamkan selama 15 menit dan disaring. Hasil saringan yang diperoleh diukur kembali volumenya untuk ditambahkan dengan air agar mencapai volume 250 ml. Dari filtrat yang diperoleh, 230 ml dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporatory* selama 210 menit, dan sebanyak 20 ml infus disimpan untuk dibaca secara bersama-sama pada spektrofotometer Uv-Vis dengan ekstrak.

Penyimpanan Infus dan Ekstrak daun Gedi Merah. Infus dan ekstrak simplisia segar dan simplisia kering yang didapatkan pada proses ekstraksi disimpan dalam kulkas pada suhu 10⁰ C selama 10 hari dan 20 hari. Kemudian ekstrak dibaca pada spektrofotometer Uv-Vis untuk mengetahui perubahan dan atau penurunan jumlah kandungan total polifenol yang terkandung dalam ekstrak daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L.)

Penentuan Total Flavonoid. Prosedur penentuan kandungan total flavonoid menggunakan metode Zhishen *et al.*

(1999). Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan dengan 5,7 mL aquades, 0,3 mL NaNO₂ dan 3 mL aluminium klorida 10%, divortek dan didiamkan selama 5 menit. Setelah 6 menit 2 mL campuran larutan tersebut ditambahkan dengan 2 mL NaOH 1 M, kemudian divortex dan dibaca pada λ 415 nm. Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin dalam mg/kg ekstrak. Kurva kalibrasi dipersiapkan dengan mengukur absorbansi larutan standar kuersetin pada panjang gelombang yang sama.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Infus adalah sediaan cair yang dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90 °C selama 15 menit. Cara pembuatannya yaitu dengan mencampur simplisia yang sudah dihaluskan dalam wadah tertentu dengan air yang secukupnya, lalu panaskan di atas penangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90 °C sambil sekali-kali diaduk. Pemilihan metode infus dan pelarut air didasarkan pada tersarnya senyawa polifenol dalam Daun Gedi Merah. Ekstrak pada penelitian ini adalah infus yang dipekatkan (sediaan kental) yang telah mengalami proses pemanasan dan penguapan selama 3-4 jam menggunakan *rotary evaporatory*.

Hasil identifikasi senyawa polifenol pada infus dan ekstrak daun Gedi Merah

No	Jenis senyawa	Hasil	Ket	
			infus	Ekstrak
1	Polifenol	Terbentuk warna hijau kehitaman	+	+
2	Flavonoid	Terbentuk warna orange/jingga	+	+
3	Tanin	Terbentuk warna hijau kehitaman	+	+

Penentuan kandungan total flavonoid

Kandungan flavonoid dalam semua sampel uji diperoleh dengan berat sampel yang sama yaitu ± 1 gram. Sampel terdiri dari infus daun Gedi Merah segar (IDGM segar), infus daun Gedi Merah kering (IDGM kering), ekstrak daun Gedi Merah segar (EDGM segar), dan ekstrak daun Gedi Merah kering (EDGM kering).

Kandungan total flavonoid infus dan ekstrak daun Gedi Merah segar

Jenis ekstrak	Penyimpanan (hari)	Kandungan total flavonoid (mg/Kg)		Rataan
		Flavonoid 1	Flavonoid 2	
Infus daun Gedi Merah Segar	1	997	1007	1002
	10	752	716	734
	20	1026	882	954
Ekstrak daun Gedi Merah segar	1	2064	1974	2019
	10	1682	1691	1686,5
	20	1203	1390	1296,5

Kandungan flavonoid IDGM segar (1002 mg/Kg) lebih rendah dibandingkan EDGM segar (2019 mg/Kg) hal ini disebabkan karena pada infus masih terdapat pelarut cukup banyak sehingga mempengaruhi kandungan flavonoid pada saat direaksikan dengan reagen *folin* dan belum terjadi pemutusan jembatan glikosida. Sedangkan ekstrak adalah sediaan kental, dimana zat aktif dengan pelarut telah terpisah dan glikosida terhidrolisis pada saat evaporasi. IDGM segar memiliki kandungan flavonoid yang lebih besar dibandingkan IDGM kering, Sama halnya dengan EDGM segar dan EDGM kering bahwa kandungan total flavonoid EDGM segar lebih tinggi dari EDGM kering hal ini disebabkan karena simplisia yang digunakan pada IDGM dan EDGM kering telah mengalami proses pemanasan yang berlebih pada saat proses pengeringan di oven. Sedangkan IDGM Kering memiliki nilai yang lebih rendah dari EDGM kering hal ini karena EDGM kering memiliki kadar air yang sedikit.

Kandungan total flavonoid pada ekstrak dan infus daun Gedi Merah memiliki nilai yaitu, EDGM segar 2019 mg/Kg dan EDGM kering 1666 mg/Kg, IDGM Segar 1002 mg/Kg dan IDGM kering 518,5 mg/Kg. Kandungan flavonoid pada ekstrak daun Gedi Merah lebih tinggi dari infus disebabkan karena telah terpisahnya zat aktif dengan pelarut dan terurainya jembatan oksigen yang menghubungkan glikon-aglikon pada saat proses evaporasi.

Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan, terikat pada gula sebagai glikosida. Glikosida adalah senyawa yang terdiri atas gabungan dua bagian senyawa, yaitu gula dan bukan gula. Keduanya dihubungkan oleh suatu bentuk ikatan berupa jembatan oksigen (O-glikosida, *dioscin*), jembatan nitrogen (N-glikosida, *adenosine*), jembatan sulphur (S-glikosida, *sinigiin*), maupun jembatan karbon (C-glikosida, *barbaloin*). Bagian gula disebut glikon sementara bagian bukan gula disebut sebagai aglikon atau genin. Apabila glikon dan aglikon saling terikat maka senyawa ini disebut sebagai glikosida. Jembatan oksigen yang menghubungkan glikon-aglikon ini sangat mudah terurai oleh pengaruh asam, basa, enzim, air, dan panas. Semakin pekat kadar asam atau basa maupun semakin panas lingkungannya maka glikosida akan semakin mudah dan cepat terhidrolisis. Saat glikosida terhidrolisis maka molekul akan pecah menjadi dua bagian, yaitu bagian gula dan bagian bukan gula. Sehingga saat pengukuran pada spektrofotometer yang terbaca adalah bagian yang bukan gula yaitu flavonoid. dibandingkan dengan infus daun Gedi Merah yang memiliki kandungan total flavonoid yang rendah, hal ini disebabkan karena belum terputusnya ikatan antara glikon-aglikon didalam infus, dan masih terdapat pelarut yang cukup banyak yang mengakibatkan kandungan total flavonoid ren-

dah pada saat pengukuran pada spektrofotometer UV-Vis.

Kandungan total flavonoid infus dan ekstrak daun Gedi Merah kering

Jenis ekstrak	Penyimpanan (hari)	Kandungan total flavonoid (mg/Kg)		Rataan
		Flavonoid 1	Flavonoid 2	
Infus daun Gedi Merah kering	1	490	547	518,5
	10	573	564	568,5
	20	512	648	580
Ekstrak daun Gedi Merah kering	1	1660	1672	1666
	10	1484	1481	1482,5
	20	1353	1166	1259,5

Kandungan total flavonoid pada IDGM segar terjadi penurunan yang tidak gradual. sedang EDGM segar mengalami proses penurunan kandungan total flavonoid yang gradual hal ini dikarenakan jembatan glikosida dalam ekstrak telah terputus. IDGM kering terjadi peningkatan kandungan flavonoid pada hari ke- 10 dan 20. Berbeda dengan EDGM kering, hari ke- 1 sampai hari ke- 20 terjadi penurunan kandungan yang gradual.

Perbedaan penurunan kandungan total flavonoid pada IDGM dan EDGM segar maupun kering selama penyimpanan, diduga karena dalam sediaan infus telah tercemar oleh mikroba atau fungi sehingga menyebabkan kandungan total flavonoid turun pada saat pengukuran. Peningkatan kandungan flavonoid setelah hari ke-20 hal ini mungkin karena ada fungi atau mikroba yang setelah direaksikan dengan reagen *folin-ciocalteu* membentuk warna yang sama dengan flavonoid. Menurut Markham (1988), tumbuhan segar merupakan bahan awal yang ideal untuk menganalisis flavonoid, walaupun cuplikan kering yang telah disimpan hati-hati selama bertahun-tahun tetapi masih tetap dapat memberikan hasil yang memuaskan. Contoh herbarium yang telah disimpan lebih dari 100 tahun ternyata masih dapat digunakan untuk

menganalisis flavonoid (Harborne, 1996), bahkan flavonoid yang telah diisolasi dari fosil yang berumur 25 juta tahun tetapi, dalam tumbuhan yang sudah lama ada kecenderungan glikosida diubah menjadi aglikon karena pengaruh fungi, dan aglikon yang peka menjadi teroksidasi.

Penurunan kandungan total flavonoid selama penyimpanan berkaitan dengan proses evaporasi dimana glikosida terhidrolisis, sama halnya dengan pengujian pada hari pertama. Saat glikosida terhidrolisis maka terjadi pemecahan molekul. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena umumnya komponen-komponen aktif secara biologis dari bahan organik berkaitan dengan gula sebagai glikosida, dan biasanya terdapat dalam vakuola sel dan kelarutannya dalam air akan bertambah jika gugus hidroksil makin banyak (Achmad, 1989). sedangkan aglikon yang kurang polar seperti isoflavanon, flavanon, flavon, dan flavonol cenderung lebih mudah larut dalam pelarut semi polar (Markham, 1988).

KESIMPULAN

1. Kandungan total flavonoid tertinggi terdapat pada ekstrak daun Gedi merah segar (1686.5 mg/Kg), diikuti dengan ekstrak daun Gedi Merah kering (1666 mg/Kg). Sedangkan untuk infus daun Gedi Merah segar (1002 mg/Kg) dan infus daun Gedi Merah kering (518.5 mg/Kg) memiliki kandungan total flavonoid yang rendah. Kandungan total flavonoid pada infus daun Gedi merah memiliki proses penurunan kandungan yang tidak gradual selama penyimpanan.
2. Lama Penyimpanan ekstrak daun Gedi Merah berpengaruh terhadap kandungan total flavonoid. Penyimpanan ekstrak hari ke-10 dan hari ke-20 mengalami penurunan kandungan total yang gradual.

3. Jenis simplisia segar maupun kering daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L.) dan jenis ekstrak dari tiap simplisia memiliki pengaruh terhadap kandungan total flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Achmad, S.A. 1989. *Buku Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam*. Universitas Terbuka, Depdikbud. Jakarta
- Depkes RI. 2010. *Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. PP. 66-67
- Harbone, J.B. 1996. *Metode Fitokimia (Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan)*. Terbitan Kedua. ITB Bandung.
- Harborne, J,B, 1987, *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (diterjemahkan oleh K. Panduwinata dan Soediro,I.), terbitan ke-2, Penerbit ITB, Bandung.
- Hung, C. Y. dan Yen. G. C. 2002. Antioxidant of Phenolic Compounds Isolated from *Mesona Procumbens* Hemsil. *J. Agric. Food Chem.* 50: 2993-2997.
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Penerbit ITB, Bandung
- Manitto, P. 1981. *Biosintesis Produk Alami*. Penerbit IKIP Semarang Press: Semarang
- Rusli S. dan D. Darmawan. 1988. *Pengaruh Cara Pengeringan dan tipe Pengeringan*
- Suryanto E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Penerbit : CV. Putra Media Nusantara (PMN). Surabaya.

POTENSI ANTIMIKROBA CENGKEH : REVIEW LITERATUR

Marko Jeremia Kalalo^{1*)}, Berta Gratia¹⁾, Crunny Bidhya Bidulang¹⁾, Fadillah Djafar¹⁾, Hosea Jaya Edy¹⁾

¹⁾ Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi

*Corresponding author email: markojeremiakalalo@gmail.com

ABSTRACT

Popularity of bioactive compounds from plants as a treatment for microbial infections have increased. The content of chemical compounds in cloves can produce various biological activities. The chemical compounds contained in cloves are phenol, flavonoid, hydroxybenzoate, and hydrokinetic acid, with the main chemical compound being eugenol. This review was prepared using secondary data from the scientific literature databases of Google Scholar, PubMed, and CORE. This review aims to collect, compile, study, and highlight the potential of cloves as an antimicrobial agent from existing literature and databases. The effectiveness of cloves in treating microorganisms has a broad spectrum, including bacteria, fungi, protozoa, and viruses. The antimicrobial activity of ethanol, methanol, acetone extract, and clove essential oil provided antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria. Cloves show bacteriostatic and bacteriocidal activity with mechanism of action in disrupting or damaging cell wall.

Keywords : antimicrobial, clove.

ABSTRAK

Popularitas senyawa bioaktif tanaman sebagai penanganan infeksi mikroba kian meningkat. Kandungan senyawa kimia cengkeh dapat menghasilkan berbagai aktivitas biologi. Senyawa kimia yang terkandung dalam cengkeh adalah fenol, flavonoid, hidroksi benzoat, dan asam hidrokinetik, dengan kandungan senyawa kimia utama eugenol. Review ini dibuat menggunakan data sekunder dari database literatur ilmiah *Google Scholar*, *PubMed*, dan *CORE*. *Review* ini bertujuan untuk mengumpulkan, menyusun, mengkaji, dan menyorot potensi cengkeh sebagai agen antimikroba dari literatur dan database yang ada. Efektivitas cengkeh dalam menghambat mikroorganisme memiliki spektrum yang luas mencakup bakteri, jamur, protozoa, dan virus. Aktivitas antimikroba ekstrak etanol, metanol, aseton, minyak atsiri cengkeh memberikan aktivitas antimikroba pada bakteri Gram positif dan Gram negatif. Cengkeh menunjukkan aktivitas bakteristatik dan bakteriosidik dengan mekanisme merusak dinding sel.

Kata kunci : antimikroba, cengkeh

PENDAHULUAN

Popularitas senyawa bioaktif minyak esensial dari tanaman sebagai penanganan infeksi mikroba yang telah mengalami resistensi kian meningkat (Cui et al., 2019). Minyak esensial banyak dikembangkan sebagai alternatif alami dari senyawa-senyawa sintetik yang tersedia. (Simas et al., 2017). Tanaman dianggap sebagai salah satu sumber dari senyawa-senyawa bioaktif yang dapat memberikan efek antimikroba (Mesquita dan Tavares, 2018).

Minyak esensial mengandung metabolit sekunder seperti terpenoid dan sesquiterpen yang berperan dalam aktivitas biologisnya (Cunha et al., 2005). Kuantitas dan komposisi dari minyak esensial bervariasi pada setiap tumbuhan bergantung pada genetik dan fisiologi tumbuhan serta kondisi saat ditanam, panen, setelah panen, dan kondisi lingkungan (Costa et al., 2008).

Ekstraksi cengkeh memiliki kandungan minyak esensial yang menonjol diantara tanaman obat lainnya. Cengkeh (*S. aromaticum*) digunakan dalam perang dunia II sebagai tanaman obat untuk tentara yang terluka dalam perang (Cunha and Roque, 2013). Cengkeh (*S. aromaticum*) digunakan di masyarakat sebagai antibakteri, antioksidan, rempah, dan penyedap makanan (Rivas et al., 2015).

Kandungan senyawa kimia cengkeh dapat menghasilkan berbagai aktivitas biologi. Senyawa kimia yang terkandung dalam cengkeh adalah fenol, flavonoid, hidroksi benzoat, dan asam hidrokinaetik, dengan kandungan senyawa kimia utama eugenol (Cortés-Rojas et al., 2014).

Review ini bertujuan untuk mengumpulkan, menyusun, mengkaji, dan menyortir, potensi cengkeh sebagai agen antimikroba dari literatur dan database yang ada.

METODE PENELITIAN

Review ini dibuat menggunakan data sekunder dari database literatur ilmiah *Google Scholar*, *PubMed*, dan *CORE*. Artikel muncul di hasil pencarian dengan menggunakan kombinasi kata kunci: “cengkeh OR clove”, “Antimicrobial OR Antimikroba”, “Antibacterial OR Antibakteri”, “Antiviral OR Antivirus”, “Antifungal OR Antijamur”, “Antiprotozoa”.

Proses pencarian dan seleksi diselesaikan pada Oktober-Desember 2020 secara independen oleh 4 *author*, lalu dikonsultasikan kepada 1 *author* lainnya. Artikel yang diambil adalah yang memiliki data antimikroba cengkeh. Artikel review dan metanalisis dieksklusikan.

Seleksi dilakukan dengan menghapus artikel yang terduplikasi dan mengevaluasi artikel dengan membaca judul, abstrak, dan seluruh artikel. Sintesis data dilakukan terhadap artikel tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktifitas Antimikroorganisme

Cengkeh memiliki aktivitas antimikroba yang luas karena dapat menghambat bakteri, jamur, protozoa, dan virus. Mikroorganisme yang dihambat atau dibunuh oleh cengkeh terdapat pada lampiran 1. Cengkeh memiliki spektrum anti bakteri yang luas. Nilai MIC terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif menunjukkan daya hambat yang baik. Cengkeh menunjukkan daya bunuh terhadap beberapa bakteri (Pathirana et al, 2019). Inhibisi terhadap bakteri Gram positif lebih besar daripada inhibisi pada bakteri Gram positif (Saikumari et al, 2016), akan tetapi cengkeh menunjukkan nilai MIC terhadap beberapa bakteri Gram negatif yang sangat rendah atau sangat kuat (Moon et

al, 2011; Pandey dan Singh, 2011; Pathirana et al, 2019).

Kombinasi dengan agen antibakteri lain berpotensi menghasilkan aktivitas antibakteri yang sinergis (Zainol, 2017; Kumar et al, 2014). Cengkeh dapat menjadi agen suportif terapi antibiotik. Kombinasi dengan antibiotik menunjukkan adanya penurunan nilai MIC maupun MBC terhadap bakteri. Kombinasi cengkeh dan antibiotik oral seperti gentamicin dan ampicilin dapat memberikan efek sinergis dalam menghambat biofilm bakteri (Moon et al, 2011).

Minyak atsiri cengkeh dapat terdisolusi dan terakumulasi serta merusak membran bakteri. Kerusakan pada membran memiliki korelasi langsung dengan kematian sel bakteri. Mekanisme bakterisidal eugenol adalah mendisrupsi membran sitoplasma (Nuñez dan D'Aquino, 2012). Aktivitas antibakteri minyak atsiri menunjukkan efek yang signifikan terhadap *rate of surviving S. aureus*. Waktu dan konsentrasi terapi minyak atsiri memiliki pengaruh terhadap efek biologisnya. Perusakan terhadap dinding sel ditunjukkan melalui peningkatan alkalin fosfatase dan prolenggasi waktu inkubasi terjadi seiring dengan penambahan konsentrasi minyak atsiri. Alkalin fosfatase terdapat diantara dinding sel dan membran sel. Perusakan dinding sel menyebabkan celah dan melepaskan alkalin fosfatase. Perusakan dinding sel juga ditandai dengan berkurangnya elektrolit sel seperti K^+ , Ca^{2+} , Na^+ . Uji SDS-PAGE menunjukkan adanya pengurangan 5 noda protein yang menunjukkan minyak atsiri memiliki efek antibakteri dengan merusak maupun menghambat sintesis protein tetapi tidak memiliki aktivitas ikatan dengan DNA (Xu et al, 2016). Senyawa bioaktif cengkeh berpotensi memberikan aktivitas antiviral dengan menjadi inhibitor terhadap enzim virus

(Saleem et al, 2019). Cengkeh dapat mencegah pembentukan cyst pada protozoa. Kemampuan ini sangat penting karena pembentukan cysts selama terapi dapat menyebabkan kegagalan terapi (Anacarso et al, 2017). Eugenol pada cengkeh menghambat aktivitas enzim ATPase, histidine decarboxylase, amylase, dan protease yang dapat berujung pada kematian sel dan menghambat pertumbuhan mycelium (Hamini-Kadar et al, 2014). Eugenol merupakan komponen utama yang bertanggung jawab dalam aktivitas antifungi karena dapat menyebabkan lisis dari spora dan micelles pada jamur. Pengamatan mikroskopis menunjukkan terjadinya pembengkakan dan kerusakan pada spora yang diberikan eugenol (Yazdanpanah dan Mohamadi, 2014).

Berdasarkan uji aktivitas antibakteri dari ekstrak bunga cengkeh terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan metode difusi agar menunjukkan bahwa, ekstrak bunga cengkeh berpotensi sebagai antibakteri karena adanya aktivitas penghambatan dari ekstrak bunga cengkeh terhadap bakteri *S.mutans* dengan terbentuknya zona hambat disekitar sumuran/cakram. Diameter zona hambat ekstrak yang diperoleh lebih besar dibandingkan kontrol positifnya yaitu ampicillin. Adanya zat-zat aktif pada bunga cengkeh menyebabkan terbentuknya zona hambat. Senyawa bersifat antibakteri seperti alkaloid, flavonoid, terfenoid, dan fenolik ini terdapat dalam bunga cengkeh (Suhendar dan Fathurrahman, 2019).

Zahro dan Agustini (2013) mengemukakan bahwa, terdapat beberapa klasifikasi aktivitas antibakteri berdasarkan zona hambatnya, yaitu : Aktivitas antibakteri lemah jika diameter zona hambatnya <5 mm, sedang jika diameter zona hambatnya 5-10 mm, kuat jika diameter zona

hambatnya 10-20 mm dan sangat kuat jika diameter zona hambatnya > 20 mm. Berdasarkan klasifikasi ini maka aktivitas antibakteri ekstrak bunga cengkeh dengan diameter zona hambat >20 mm tergolong sangat kuat terhadap *S. mutans* yang menunjukkan bahwa senyawa antibakteri yang terkandung di dalam ekstrak metanol Bunga cengkeh memiliki aktivitas penghambatan yang besar terhadap *S. mutans*. Untuk hasil uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak metanol bunga cengkeh terhadap bakteri *S. mutans* menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak bunga cengkeh menyebabkan semakin tinggi pula penghambatan terhadap bakteri (Suhendar dan Fathurrahman, 2019).

Kandungan Senyawa Kimia Cengkeh

Kandungan senyawa dalam cengkeh terdapat pada lampiran 2. Salah satu senyawa yang biasa digunakan dalam industri farmasi karena memiliki banyak aktivitas senyawa farmakologi sebagai antiseptik, antiinflamasi, antiviral, antimikroba, antifungal, antispasmodik, stimulan, anestetik lokal adalah eugenol (Alisa et al, 2015). Eugenol mampu menghambat bakteri gram positif dan juga negatif hingga pada bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Karena sifatnya yang *hidrophobic*, senyawanya akan merusak struktureus sel dengan cara masuk kedalam lipopolisakarida yang ada dalam membran sel (Utami, dkk. 2019). Alpha-Humulene Merupakan ligan terbaik yang didapat dari protein target 1WS1 dengan tanaman adas bintang, dengan nilai binding affinity -6,4 kkal/mol dan nilai RMSD 0. RMSD bernilai 0 menunjukkan bahwa konformasi ligan native hasil docking mendekati konfirmasi sesungguhnya (Prabowo, 2018). Sesquiterpen bisiklik alami, β -caryophyllene (BCP) dan β -caryophyllene oxide (BCPO),

terdapat di sejumlah besar tumbuhan di seluruh dunia.

Baik BCP dan BCPO (BCP (O)) memiliki aktivitas antikanker yang signifikan, yang memengaruhi pertumbuhan dan proliferasi berbagai sel kanker. BCP merupakan salah satu komponen aktif utama minyak atsiri yang berasal dari tumbuhan rempah dan pangan dalam jumlah besar (Fidyat, K., dkk, 2016). Minyak esensial dan anethole, diuji pada aorta tikus dengan atau tanpa endotelium, menunjukkan aktivitas vasorelaksan NO-independent yang sebanding pada konsentrasi antiplatelet yang telah terbukti bebas dari efek sitotoksik in vitro (Tognolini, dkk, 2007). Anethole bersifat bakterisidal dan memberikan aksi pembunuhan cepat pada sel *V. cholerae* dan bisa menjadi kandidat obat antimikroba yang potensial, terutama terhadap infeksi yang dimediasi oleh MDR *V. cholerae* (Zahid, dkk, 2015). Minyak terpineol dari Jawa Timur menurut penelitian mengandung 82,9% α -pinene. Terpineol sebagai hasil sintesis dari α -pinene merupakan bahan kimia yang digunakan sebagai campuran pada industri kosmetik sebagai parfum, dalam industri farmasi sebagai anti jamur dan anti serangga, desinkfektan dan lain-lain (Daryono, 2015).

KESIMPULAN

Cengkeh memiliki potensi antimikroba yang menjanjikan. Efektivitas cengkeh dalam menghambat mikroorganisme memiliki spektrum yang luas mencakup bakteri, jamur, protozoa, dan virus. Aktivitas antimikroba ekstrak etanol, metanol, aseton, minyak atsiri cengkeh memberikan aktivitas antimikroba pada bakteri Gram positif dan Gram negatif. Cengkeh menunjukkan aktivitas bakteriostatik dan bakteriosidik.

DAFTAR PUSTAKA

- Alisa., Dkk. 2015. *Sintesis Eugenol Menjadi 2-Metoksi-4-(1-Propenil) Fenol Melalui Reaksi Isomerisasi Dan Aplikasinya Sebagai Bahan Suplemen Pada Mouthwash*. Jurnal. Vol.3 No.2.
- Anacarso, I., Sabia, C., Niederhäusern, S. De, Condò, C., Bondi, M., Messi, P., Anacarso, I., Sabia, C., & Niederhäusern, S. De. (2017). In Vitro Evaluation Of The Amoebicidal Activity Of Rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L .) And Cloves (*Syzygium Aromaticum* L . Merr . & Perry) Essential Oils Against *Acanthamoeba Polyphaga* Trophozoites. *Natural Product Research*, 6419(November), 1–6. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1399390>
- Batool, F., & Shahzad-Ul-Hussan, S. (2019). *Inhibition Of Dengue Virus Protease By Eugenol, Isobutyl Alcohol, And Biogenic Amines Isolated From The Flower Buds Of Syzygium Aromaticum (Cloves)*. 2–10. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b02861>
- Daryono, Elvianto Dwe. 2015. *Sintesis A-Pinene Menjadi A-Terpineol Menggunakan Katalis H₂SO₄ Dengan Varisi Suhu Reaksi Dan Volume Etano*. Jurnal Teknik Kimia USU, Vol.4. No.2.
- Eldin, H. M. E. (2019). *Potent Lethal Effect Of Syzygium Aromaticum Essential Oil On Blastocystis Spp .: An In Vitro Study*. <https://doi.org/10.21608/Puj.2019.10650.1035>
- Fagere, Z. O., & Magboul, A. Z. Al. (2016). Antibacterial Activity Of Clove Oil Against Microorganisms At Khartoum State , Sudan. *Net Journals*, 4(December), 122–128.
- Fidy, Klaudyna. Et Al. 2016. *B-Caryophyllene And B-Caryophyllene Oxide— Natural Compounds Of Anticancer And Analgesic Properties*. *Cancer Medicine*. Vol.5(10).
- Hoque, M. M., Bari, M. L., Juneja, V. K., & Kawamoto, S. (2008). Ethanol, Aqueous Extracts, And Essential Oils Of Cloves (*Syzygium Aromaticum* L .) Against *Staphylococcus Aureus* Extract Effectiveness Of Cengkeh Flower (*Eugenia Aromatica*) On Growth Of Bacteria *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Analis Kesehatan*, 7(1), 710–716.
- Islamuddin, M., Sahal, D., & Afrin, F. (2014). *Apoptosis-Like Death In Leishmania Donovanii Promastigotes Induced By Eugenol-Rich Oil Of Syzygium Aromaticum*. 74–85. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.064709-0>
- Journal, B. (2011). *Evaluation Of Antifungal Activity In Essential Oil Of The Syzygium Aromaticum (L.) By Extraction, Purification And Analysis Of Its Main Component Eugenol Inder Singh Rana*, Aarti Singh Rana, Ram Charan Rajak Research & Development Center, Kilpest India Ltd., Govindpura, Bhopal-462023, India*. 1269–1277.
- Journal, I., Ijbb, B., Rahman, M. M., Rahman, M. A., Islam, M. S., & Alam, M. F. (2011). *In Vitro Controlling Of Selected Human Diarrhea Causing Bacteria By Clove Extracts (Syzygium Aromaticum L .)*. 1(2), 17–26.

- Kumar, Y., Agarwal, S., Srivastava, A., Kumar, S., & Agarwal, G. (2014). Antibacterial Activity Of Clove (*Syzygium Aromaticum*) And Garlic (*Allium Sativum*) On Different Pathogenic Bacteria. *International Journal Of Pure & Applied Bioscience*, 2(3), 305–311.
- Lova, I. P. S. T., Wijaya, W. A., Paramita, N. L. P. V., & Putra, A. A. R. Y. (2018). Perbandingan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun, Tangkai Bunga Dan Bunga Cengkeh Bali (*Syzygium Aromaticum* L.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acne* Dengan Metode Difusi Disk. *Jurnal Kimia*, 30. <https://doi.org/10.24843/Jchem.2018.V12.I01.P06>
- Machado, M., Dinis, A. M., Salgueiro, L., Custódio, J. B. A., Cavaleiro, C., & Sousa, M. C. (2011). Experimental Parasitology Anti-Giardia Activity Of *Syzygium Aromaticum* Essential Oil And Eugenol: Effects On Growth , Viability , Adherence And Ultrastructure. *Experimental Parasitology*, 127(4), 732–739. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2011.01.011>
- Marcía Fuentes, J. A., Fernandez, I. M., Aleman, R. S., Maldonado, S. A. S., Roger, L. F., Herrera Funez, N., Chavarría, L. A., & Kayanush, A. (2020). Chemical Characterization Of The Essential Oil Of *Syzygium Aromaticum* And Its Antimicrobial Activity Against A Probiotic *Lactobacillus Acidophilus*. *European Scientific Journal ESJ*, 16(15), 33–42. <https://doi.org/10.19044/esj.2020.V16n15p33>
- Mehmood, Y., Farooq, U., Yousaf, H., Riaz, H., Mahmood, R. K., Nawaz, A., Abid, Z., Gondal, M., Malik, N. S., Barkat, K., & Khalid, I. (2020). *Antiviral Activity Of Green Silver Nanoparticles Produced Using Aqueous Buds Extract Of Syzygium Aromaticum*. 839–845.
- Mohamed, S. G., & Badri, A. M. (2017). Antimicrobial Activity Of *Syzygium Aromaticum* And Citrus Aurantifolia Essential Oils Against Some Microbes In Khartoum, Sudan. *EC Microbiology*, 6, 253–259.
- Moon, S., Kim, H., & Cha, J. (2011). Synergistic Effect Between Clove Oil And Its Major Compounds And Antibiotics Against Oral Bacteria. *Archives Of Oral Biology*, 56(9), 907–916. <https://doi.org/10.1016/j.archora.2011.02.005>
- Núñez, L., & D'Aquino, M. (2012). Microbicide Activity Of Clove Essential Oil (*Eugenia Caryophyllata*). *Brazilian Journal Of Microbiology*, 43(4), 1255–1260. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400003>
- Nzeako, B. C., Al-Kharousi, Z. S. N., & Al-Mahrooqi, Z. (2006). Antimicrobial Activities Of Clove And Thyme Extracts. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 6(1), 33–39.
- Packyanathan, J. S., & Prakasam, G. (2017). Antibacterial Effect Of Clove Oil Against Clinical Strains Of *Escherichia Coli*. *Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research*, 9(7), 1203–1204.
- Paliling, A., Posangi, J., & Anindita, P. S. (2016). Uji Daya Hambat Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Terhadap Bakteri *Porphyromonas Gingivalis*. *E-GIGI*, 4(2). <https://doi.org/10.35790/eg.4.2.2016.14159>
- Pandey, A., & Singh, P. (2011). *Antibacterial Activity Of Syzygium Aromaticum (Clove) With Metal*

- Ion Effect Against Food Borne Pathogens*. 1(2), 69–80.
- Parthasarathy, H., & Thombare, S. (2013). *Evaluation Of Antimicrobial Activity Of Azadirachta Indica , Syzygium Aromaticum And Cinnamomum Zeylanicum Against Oral Microflora*. 2, 27–29.
- Pathirana, H. N. K. S., Wimalasena, S. H. M. P., Desilva, B. C. J., Hossain, S., & Gang-Joon, H. (2019). Antibacterial Activity Of Clove Essential Oil And Eugenol Against Fish Pathogenic Bacteria Isolated From Cultured Olive Flounder (*Paralichthys Olivaceus*). *Slovenian Veterinary Research*, 56(1), 31–38. <https://doi.org/10.26873/SVR-590-2018>
- Pavesi, C., Banks, L. A., & Hudaib, T. (2018). Antifungal And Antibacterial Activities Of Eugenol And Non-Polar Extract Of *Syzygium Aromaticum L.* *Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research*, 10(2), 337–339.
- Prabowo, Sri., Santoso, Broto. 2018. *Profil In Silico Interaksi Senyawa Alam Ketumbar Dan Adas Bintang Sebagai Inhibitor Peptida Deformilasa Mycobacterium Tuberculosis (3SVJ Dan IWS1) Menggunakan Bantuan Pyrx-Vina*. STIKES PKU Muhammadiyah, Surakarta.
- Saad, A., & Karkosh, A. (2012). Study Of In Vitro Antibacterial Activity Of The Essential Oils Of Cloves (*Syzygium Aromaticum*) And The Effect Of Temperature On Antibacterial Activity. *Euphrates Journal Of Agriculture Science*, 4(1), 15–19.
- Saikumari, D., Rani, S. K. S., & Saxena, N. (2016). Antibacterial Activity Of *Syzygium Aromaticum L.* (Clove). *International Journal Of Current Microbiology And Applied Sciences*, 5(11), 484–489. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.511.056>
- Sciences, A. (2014). *Journal Of Experimental Biology And Agricultural Sciences Antifungal Activity Of Clove (Syzygium Aromaticum L .) Essential Oil Against Phytopathogenic Fungi Of Tomato (Solanum Lycopersicum L) In Algeria*. 2(2320).
- Shoaib, A., Saeed, G., & Ahmad, S. (2014). *Antimicrobial Activity And Chemical Analysis Of Some Edible Oils (Clove , Kalonji And Taramira)*. 13(46), 4347–4354. <https://doi.org/10.5897/AJB2014.13683>
- Suhendar, U., & Fathurrahman, M. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans*. *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 9(1), 26–34. <https://doi.org/10.33751/Jf.V9i1.1257>
- Tognolini, M., Ballabeni, V., Bertoni, S., Bruni, R., Impicciatore, M. Dan Barocelli, E. (2007). Protective Effect Of *Foeniculum Vulgare* Essential Oil And Anethole In An Experimental Model Of Thrombosis. *Pharmacological Research* 56: 254-260.
- Utami, Retno., Dkk. 2019. *Aktivitas Ekstrak Batang Cengkeh (Syzygium Aromaticum) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin-Resisten Staphylococcus Aureus (MRSA)*. Jurnal. UNIMUS. Vol.2
- Xu, J. G., Liu, T., Hu, Q. P., & Cao, X. M. (2016). Chemical Composition, Antibacterial Properties And Mechanism Of Action Of Essential Oil From Clove Buds Against *Staphylococcus Aureus*. *Molecules*, 21(9), 1–13.

- <https://doi.org/10.3390/molecules21091194>
- Yazdanpanah, L., & Mohamadi, N. (2014). *Antifungal Activity Of The Clove Essential Oil From Syzygium Aromaticum On Paecilomyces Variotii Agent Of Pistachio Dieback*. 4(6), 42–45.
- Zahid, M. *Et Al*. 2015. *Anethole Inhibits Growth Of Recently Emerged Multidrug Resistant Toxigenic Vibrio Cholerae O1 El Tor Variant Strains In Vitro*. J.Vet.Med.Sci. 2015. Vol.77(5): 535-540
- Zahro, L., R. Agustini. 2013. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Saponin Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostreatus*) Terhadap *S. Aureus* Dan *E. Coli*. *Journal Of Chemistry*. 2(2): 120-129.
- Zainol, S. N., Mohd Said, S., Abidin, Z. Z., Azizan, N., Majid, F. A. A., & Jantan, I. (2017). Synergistic Benefit Of *Eugenia Caryophyllata* L. And *Cinnamomum Zeylanicum* Blume Essential Oils Against Oral Pathogenic Bacteria. *Chemical Engineering Transactions*, 56(July 2018), 1429–1434. <https://doi.org/10.3303/CET1756239>

LAMPIRAN.

Lampiran 1. Mikroorganisme yang dihambat/dibunuh oleh cengkeh

Mikroorganisme	Spesies Mikroorganisme	Referensi	
Bakteri Gram positif	<i>Bacillus cereus</i>	Kumar et al (2014) Hoque et al (2008)	
	<i>Bacillus subtilis</i>	Muhamed dan Badri (2017) Fagere dan Magboul (2016) Paliling et al (2016) Saikumari et al (2016) Zahra et al (2016) Kumar et al (2014)	
	<i>Corynebacterium spp</i>	Nzeako et al (2016)	
	<i>Corynebacterium hoffmonii</i>	Shoaib et al (2014)	
	<i>Corynebacterium xerosis</i>	Shoaib et al (2014)	
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Zainola et al (2017)	
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Fuentes et al (2020)	
	<i>Lactococcus garvieae</i>	Pathirana et al (2019)	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	Hoque et al (2008)	
	<i>Propionibacterium acnes</i>	Lova et al (2018)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Huda et al (2018) Pavesil et al (2018) Muhamed dan Badri (2017) Fagere dan Magboul (2016) Nzeako et al (2016) Paliling et al (2016) Saikumari et al (2016) Xu et al (2016) Zahra et al (2016) Kumar et al (2014) Karkosh (2012) Pandey dan Singh (2011) Hoque et al (2008) Xu et al (2006)	
	<i>Streptococcus anginosus</i>	Moon et al (2011)	
	<i>Streptococcus criceti</i>	Moon et al (2011)	
	<i>Streptococcus gordonii</i>	Moon et al (2011)	
	<i>Streptococcus iniae</i>	Pathirana et al (2019)	
	<i>Streptococcus mutans</i>	Suhendar dan Fathurrahman (2019) Zainola et al (2017) Moon et al (2011)	
	<i>Streptococcus parauberis</i>	Pathirana et al (2019)	
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Nzeako et al (2016)	
	<i>Streptococcus ratti</i>	Moon et al (2011)	
	<i>Streptococcus salivarius</i>	Zainola et al (2017)	
	<i>Streptococcus sanguinis</i>	Moon et al (2011)	
	<i>Streptococcus sobrinus</i>	Moon et al (2011)	
	Bakteri Gram negatif	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	Zainola et al (2017) Moon et al (2011)
		<i>Alcaligenes faecalis</i>	Hoque et al (2008)
		<i>Aeromonas hydrophila</i>	Hoque et al (2008)
		<i>Bacteroides fragilis</i>	Nzeako et al (2016)
		<i>Escherichia coli</i>	Pavesil et al (2018) Packyanathan (2017) Muhamed dan Badri (2017) Fagere dan Magboul (2016) Nzeako et al (2016) Paliling et al (2016) Saikumari et al (2016) Zahra et al (2016) Kumar et al (2014) Shoaib et al (2014) Karkosh (2012) Pandey dan Singh (2011) Rahman et al (2011) Hoque et al (2008)
		<i>Edwardsiella tarda</i>	Pathirana et al (2019)
		<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Moon et al (2011)
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Shoaib et al (2014)
		<i>Photobacterium damsela</i>	Pathirana et al (2019)
		<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Paliling et al (2016)
		<i>Prevotella intermedia</i>	Moon et al (2011)

	<i>Proteus mirabilis</i>	Rahman et al (2011)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Muhamed dan Badri (2017) Fagere dan Magboul (2016) Nzeako et al (2016) Paliling et al (2016) Saikumari et al (2016) Zahra et al (2016) Shoaib et al (2014) Pandey dan Singh (2011) Hoque et al (2008)
	<i>Pseudomonas putida</i>	Hoque et al (2008)
	<i>Salmonella Enteritidis</i>	Hoque et al (2008)
	<i>Salmonella spp</i>	Nzeako et al (2016)
	<i>Salmonella typhi</i>	Muhamed dan Badri (2017) Kumar et al (2014) Shoaib et al (2014)
	<i>Salmonella Typhimurium</i>	Rahman et al (2011)
	<i>Shigella dysenteriae</i>	Rahman et al (2011)
	<i>Vibrio harveyi</i>	Pathirana et al (2019)
	<i>Vibrio ichthyenteri</i>	Pathirana et al (2019)
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Hoque et al (2008)
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	Rahman et al (2011)
Jamur	<i>Aspergillus sp.</i>	Rana et al (2011)
	<i>Candida albicans</i>	Nzeako et al (2016) Muhamed dan Badri (2017) Pavesil et al (2018)
	<i>Fusarium commune</i>	Kadar et al (2014)
	<i>Fusarium moniliforme</i>	Rana et al (2011)
	<i>Fusarium oxysporum</i>	Rana et al (2011)
	<i>Fusarium oxysporum f.sp radicis lycopersici</i>	Kadar et al (2014)
	<i>Fusarium redolens</i>	Kadar et al (2014)
	<i>Mucor sp.</i>	Rana et al (2011)
	<i>Microsporium gypseum</i>	Rana et al (2011)
	<i>Paecilomyces variotii</i>	Yazdanpanah dan Mohamadi (2014)
	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Shoaib et al (2014)
	<i>Trichophyton rubrum</i>	Rana et al (2011)
Protozoa	<i>Acanthamoeba polyphaga</i>	Anacurso et al (2017)
	<i>Blastocystis spp.</i>	Eldin (2019)
	<i>Giardia lamblia</i>	Machado et al (2011)
	<i>Leishmania donovani</i>	Islamuddin et al (2014)
	<i>Plasmodium berghei</i>	Taher et al (2018)
	<i>Plasmodium falciparum</i>	Hermanto et al (2013)
Virus	Dengue virus (DENV)	Saleem et al (2019)
	Newcastle disease virus (NDV)	Mehmood et al (2020)

Lampiran 2. Senyawa yang terkandung dalam cengkeh

Senyawa	Referensi
<i>4-Allylanisole</i>	Xu et al (2016)
<i>Anethol</i>	Xu et al (2016)
<i>(E)-γ bisbolene</i>	Zainola et al (2017)
<i>Cadalene</i>	Pathirana et al (2019)
<i>Cadinene</i>	Pathirana et al (2019)
	Xu et al (2016)
<i>γ-Cadinene</i>	Machado et al (2011)
<i>Δ-Cadinene</i>	Machado et al (2011)
<i>Cadina-1(10),4-diene</i>	Islamuddin et al (2014)
<i>Calacorene</i>	Fuentes et al (2020)
<i>Calamene</i>	Fuentes et al (2020)
<i>Z-Calamenene</i>	Machado et al (2011)
<i>L-Calamenene</i>	Islamuddin et al (2014)
<i>Camphene</i>	Machado et al (2011)
<i>L-Camphor</i>	Islamuddin et al (2014)
<i>Caryophyllene oxide</i>	Fuentes et al (2020) Pathirana et al (2019) Xu et al (2016) Islamuddin et al (2014) Machado et al (2011)
<i>α-Caryophyllene</i>	Xu et al (2016)
<i>β-Caryophyllene</i>	Fuentes et al (2020) Pathirana et al (2019)

	Xu et al (2016)
	Islamuddin et al (2014)
	Nunes dan Aquino (2012)
<i>(E)-caryophyllene</i>	Zainola et al (2017)
<i>Oxicaryophyllene</i>	Nunes dan Aquino (2012)
<i>Carvacrol</i>	Machado et al (2011)
<i>Copaene</i>	Fuentes et al (2020)
	Islamuddin et al (2014)
<i>Cubebene</i>	Islamuddin et al (2014)
<i>p-Cymene</i>	Machado et al (2011)
<i>α-Copaene</i>	Xu et al (2016)
<i>Cedrene</i>	Xu et al (2016)
<i>Chavicol</i>	Xu et al (2016)
	Islamuddin et al (2014)
<i>1,8-Cineole</i>	Machado et al (2011)
<i>2,4-Diacetylphloroglucinol</i>	Islamuddin et al (2014)
<i>Eugenol</i>	Fuentes et al (2020)
	Pathirana et al (2019)
	Zainola et al (2017)
	Xu et al (2016)
	Islamuddin et al (2014)
	Nunes dan Aquino (2012)
	Machado et al (2011)
<i>Eugenyl acetate</i>	Fuentes et al (2020)
	Pathirana et al (2019)
	Xu et al (2016)
	Islamuddin et al (2014)
	Nunes dan Aquino (2012)
<i>Dihydro-eugenol acetate</i>	Zainola et al (2017)
<i>(E)-isoeugenol</i>	Zainola et al (2017)
<i>(Z)-isoeugenol</i>	Zainola et al (2017)
<i>(E)-methyl isoeugenol</i>	Zainola et al (2017)
<i>Cis-beta-elemenone</i>	Zainola et al (2017)
<i>Eucalyptol</i>	Xu et al (2016)
<i>Farnesene</i>	Islamuddin et al (2014)
<i>E,E-α-Farnesene</i>	Machado et al (2011)
<i>Globulol</i>	Xu et al (2016)
<i>Henicosane</i>	Islamuddin et al (2014)
<i>Humulene</i>	Fuentes et al (2020)
<i>α-Humulene</i>	Fuentes et al (2020)
	Pathirana et al (2019)
	Islamuddin et al (2014)
	Nunes dan Aquino (2012)
	Machado et al (2011)
<i>2-heptanone</i>	Fuentes et al (2020)
<i>2-etil-hexanoic acid</i>	Fuentes et al (2020)
<i>Jasmone</i>	Xu et al (2016)
<i>Ledol</i>	Xu et al (2016)
<i>Limonene</i>	Machado et al (2011)
<i>cis-Limonene oxide</i>	Islamuddin et al (2014)
<i>Linalyl acetate</i>	Machado et al (2011)
<i>Linalool</i>	Machado et al (2011)
<i>Methyl salicylate</i>	Xu et al (2016)
<i>α-Muurolene</i>	Xu et al (2016)
	Machado et al (2011)
<i>γ-Muurolene</i>	Zainola et al (2017)
	Machado et al (2011)
<i>Nonacosane</i>	Islamuddin et al (2014)
<i>2-Pinene</i>	Xu et al (2016)
<i>α-Pinene</i>	Xu et al (2016)
	Machado et al (2011)
<i>β-Pinene</i>	Machado et al (2011)
<i>Isobornyl propanoate</i>	Zainola et al (2017)
<i>α-Selinene</i>	Xu et al (2016)
<i>β-Selinene</i>	Xu et al (2016)
	Machado et al (2011)
<i>2'.3'.4'-Trimethoxyacetophenone</i>	Islamuddin et al (2014)
<i>Valencene</i>	Xu et al (2016)
<i>Viridiflorol</i>	Islamuddin et al (2014)

**TOKSISITAS AKUT DEKOK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura*)
MENGUNAKAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

Rosa Fatimah¹⁾, Bilal Subchan Agus Santoso^{1*)}

¹⁾*Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang*
Korespondensi : bilalsas67@gmail.com

ABSTRACT

Kersen (*Muntingia calabura*) leaf is a kersen plant parts are usually processed by the community into traditional medicine in the form of a drink by boiling. The boiling process that is too long allows the secondary metabolite compounds contained in kersen leaf to be damaged or reduced, therefore it is necessary to do a screening test of secondary metabolites of decoction of kersen leaf, besides plants containing secondary metabolites can be toxic, so that testing needs to be done components of chemical compounds that have toxic activity. The aims of this study was to know the minimum concentration of acute toxic and component of decoction of kersen leaf. Toxicity testing was carried out using the BSLT method (Brine shrimp lethality test) with test animals using *Artemia salina* Leach larvae in each treatment with various concentrations of 250 mg L⁻¹, mg L⁻¹, 500 mg L⁻¹, 1000 mg L⁻¹, 1500 mg L⁻¹, 2000 mg L⁻¹, 25000 mg L⁻¹ and replication 3 times. The results of screening secondary metabolites were flavonoides, tannins, and alkaloids. The results of the acute toxicity test showed the LC₅₀ value was 621.25 mg L⁻¹.

Key word: Kersen Leaf, decoction, toxicity, BSLT

ABSTRAK

Daun kersen (*Muntingia calabura*) merupakan bagian tanaman kersen yang biasanya diolah oleh masyarakat menjadi obat tradisional dalam bentuk minuman dengan cara direbus. Proses perebusan yang terlalu lama memungkinkan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun kersen menjadi rusak atau berkurang maka dari itu perlu dilakukan uji skrining senyawa metabolit sekunder pada daun rebusan daun kersen selain itu tanaman yang mengandung senyawa metabolit sekunder dapat bersifat toksik, sehingga perlu dilakukan pengujian mengenai komponen senyawa kimia yang memiliki aktivitas toksik. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui konsentrasi minimum dari rebusan daun kersen yang bersifat toksik. Pengujian toksisitas dilakukan menggunakan metode BSLT dengan hewan uji menggunakan larva *Artemia salina* Leach pada masing-masing perlakuan dengan variasi konsentrasi yaitu 250 mg L⁻¹, mg L⁻¹, 500 mg L⁻¹,

1000 mg L⁻¹, 1500 mg L⁻¹, 2000 mg L⁻¹, 25000 mg L⁻¹ dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Dari hasil skrining metabolit sekunder diketahui bahwa rebusan daun kersen memiliki senyawa metabolit sekunder flavonoid, tanin, dan alkaloid. Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa rebusan daun kersen dapat memberikan efek toksik akut pada hewan uji dengan nilai LC₅₀ sebesar 621,25 mg L⁻¹.

Kata Kunci: Daun kersen, Rebusan, toksisitas, BSLT

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman tumbuhan-tumbuhan. Tumbuhan sebagai bahan alami biasanya digunakan sebagai bahan obat karena umumnya memiliki senyawa metabolit sekunder. Metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan yang memiliki aktifitas farmakologi. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan biasanya flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid, steroid, dan tanin. Beberapa senyawa metabolit memiliki kemampuan sebagai antioksidan, antibakteri, dan antinflamasi (Tulung et al., 2017)

Salah satu tumbuhan yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional yaitu daun kersen (*Muntingia calabura*). Kersen berasal dari Amerika tropis sehingga sangat mudah dijumpai di daerah tropis seperti Indonesia. Tanaman ini biasanya tumbuh di halaman rumah atau dipinggir jalan. Umumnya tanaman kersen dimanfaatkan sebagai peneduh selain itu bagian buah dan daun dari tanaman ini banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional. Daun kersen sendiri biasanya diolah oleh masyarakat menjadi obat tradisional dalam bentuk minuman dengan cara direbus. Penelitian mengenai senyawa yang terkandung dalam tumbuhan kersen sudah banyak dilakukan. Pada penelitian yang dilakukan oleh (Nurhasanah, 2016) diketahui bahwa daun kersen memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, polifenol, steroid- triterpenoid, tanin, monoterpena- seskuiterpena serta saponin. Sedangkan menurut penelitian yang dilakukan oleh (Sentat and Pangestu, 2016) diketahui bahwa ekstrak etanol daun kersen mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin dan saponin. Selain itu dari hasil penelitian yang dilakukan oleh (Widiastuti et

al., 2017) diketahui bahwa infusa daun kersen mengandung senyawa kimia flavonoid, saponin, dan tanin. Tanaman yang mengandung senyawa metabolit sekunder dapat bersifat toksik, sehingga perlu dilakukan pengujian mengenai komponen senyawa kimia yang memiliki aktivitas toksik. Uji toksisitas perlu dilakukan untuk mengetahui konsentrasi minimum dari suatu tanaman agar bersifat toksik (Tulung et al., 2017).

Uji toksitas dapat dilakukan menggunakan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). Uji toksisitas menggunakan metode BSLT bertujuan untuk mengetahui kadar kandungan senyawa yang berpotensi sebagai racun pada pertumbuhan sel. BSLT merupakan salah satu metode pengujian toksisitas menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. Prinsip metode pengujian menggunakan BSLT berdasarkan senyawa aktif dan sifat toksiknya yang dapat membunuh larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji (Sukandar et al., 2007). Metode ini dilakukan untuk melihat tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach yang disebabkan oleh bahan uji. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai LC50 (letal concentration) bahan uji, yaitu jumlah dosis atau konsentrasi bahan uji yang dapat menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam (Lisdawati et al., 2006).

Berdasarkan pengalaman empiris, daun kersen biasanya dijadikan sebagai obat tradisional dalam bentuk minuman dengan cara di rebus. Maka dari itu peneliti akan melakukan uji toksisitas rebusan daun kersen untuk mengetahui konsentrasi minimum toksik yang terdapat dalam rebusan daun kersen.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya yaitu tabung reaksi, panci aluminium, aera-

tor, lampu neon, labu ukur, batang, beker gelas, gelas ukur, daun kersen, air, aquades, air laut, larva udang (*Artemia salina* Leach), $FeCl_3$, serbuk magnesium, dan asam klorida 2N, reagen mayer, dragendof, wagner.

Rancangan Penelitian

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode penelitian eksperimental dengan post test only control group design menggunakan uji BSLT untuk mengetahui toksisitas infusa daun kersen (*Muntingia calabura*) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan beberapa konsentrasi infusa yang digunakan. Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu determinasi tumbuhan, pengumpulan bahan, pembuatan rebusan daun kersen, skrining fitokimia, penyiapan bahan uji, dan penetasan larva udang, pelaksanaan uji dengan metode BSLT, dan analisa data.

1. Pengambilan bahan

Bagian tumbuhan kersen yang digunakan pada penelitian ini yaitu bagian daun. Daun kersen dipetik dan ditimbang setelah itu dicatat hasil penimbangan daun kersen yang sudah dipetik dari pohonnya.

2. Determinasi Tumbuhan

Determinasi bagian tanaman kersen dilakukan dengan bantuan Lembaga Balai Materia Medika Batu.

3. Pembuatan bahan uji (Rebusan Daun Kersen)

Bahan uji dibuat dengan cara merebus daun kersen sebanyak 400g kedalam 800ml air dengan api sedang hingga menjadi setengah volume awal.

4. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder tani, saponin, dan flavonoid yang terdapat pada rebusan daun kersen dengan metode pereaksi menggunakan uji warna dan pengendapan.

5. Penetasan telur larva

Penetasan telur larva dilakukan dengan diambil telur *Artemia salina* Leach sebanyak 1,5 gram dan direndam telur tersebut dalam air laut buatan 20% sebanyak 2 liter dan diterangi dengan lampu serta diaerasi dengan aerator selama 48 jam (Juniartini, 2009).

6. Pembuatan larutan induk

Larutan induk diambil dari hasil rebusan daun kersen dengan konsentrasi 10% b/v.

7. Pembuatan larutan baku kerja

Pembuatan larutan kerja diambil masing-masing dari larutan induk diambil hingga menjadi beberapa konsentrasi yaitu 250 mg L-1, 500 mg L-1, 1000 mg L-1, 1500 mg L-1, 2000 mg L-1.

8. Pelaksanaan uji BSLT

Disiapkan 5 tabung reaksi, lalu isi tabung reaksi dengan larutan baku kerja dengan masing-masing konsentrasi yaitu 250 mg L-1, 500 mg L-1, 1000 mg L-1, 1500 mg L-1, 2000 mg L-1. Tabung reaksi diisi sebanyak air rebusan daun kersen dan air laut dengan perbandingan 1:1 yaitu 5 ml rebusan daun kersen dan 5 ml hingga menjadi konsentrasi 250 mg L-1, 500 mg L-1, 1000 mg L-1, 1500 mg L-1, dan 2000 mg L-1. setelah itu dimasukkan larva *Artemia salina* Leach sebanyak 10 ekor pada masing-masing vial. Masing-masing vial selanjutnya diinkubasi dalam suhu kamar selama 24 jam dibawah penerangan lampu. Perhitungan dilakukan dengan melihat larva *Artemia salina* Leach yang mati disetiap jam ke-24 dari setiap konsentrasi. Cara menghitung larva udang yang mati yaitu dilakukan dengan cara manual dengan bantuan pengelihat mata di bawah penyinaran lampu agar larva *Artemia salina* Leach yang mati dapat terlihat dengan jelas. Uji BSLT dilakukan replikasi sebanyak 3 kali pada masing-masing kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Organoleptis Air Rebusan Daun Kersen

Organoleptik	Dekok daun kersen
Bentuk	Cair
Warna	Coklat kekuningan
Bau	Khas

Tabel 2. Hasil Analisis Senyawa Metabolit Sekunder

Kandungan kimia	Hasil
Flavonoid	+
Tanin	+
Saponin	-
Alkaloid	+ (Mayer, Dragendorf)

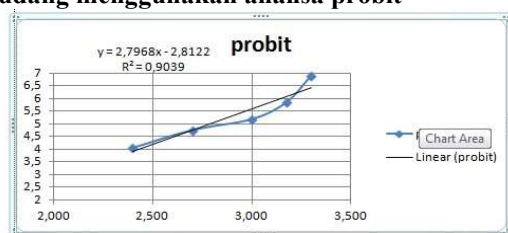
Tabel 3. Hasil pengamatan kematian larva udang

Replikasi ke	Angka kematian larva					K(-)
	Konsentrasi dekok					
	250	500	1000	1500	2000	
1	3	4	5	9	9	0
2	2	3	5	8	10	0
3	0	5	7	7	10	0
Total kematian	5	12	17	24	29	0
Rata-rata	0,1667	0,4	0,56	0,8	0,96	0
% kematian	16,7	40	56	80	96	0

Tabel 4. Data pengamatan kematian larva udang menggunakan analisa probit

Konsentrasi (mg L ⁻¹)	Log mg L ⁻¹	Probit	% kematian	Kematian	Total
250	2,398	4,05	17	5	30
500	2,699	4,75	40	12	30
1000	3,000	5,18	57	17	30
1500	3,176	5,84	80	24	30
2000	3,301	6,88	97	29	30

Grafik 1. Data pengamatan kematian larva udang menggunakan analisa probit



$$\begin{aligned} \text{Persamaan} & : y = ax + b \\ & : y = 2,7968x - 2,8122 \\ & : 5 = 2,7968x - 2,8122 \\ & : x = \\ & \quad 2,7933 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{LC}_{50} & = \text{antilog}(x) \\ & = \text{antilog}(2,7933) \\ & = 621,25 \text{ mg} \\ & \quad \text{L}^{-1} \end{aligned}$$

Dari data yang diperoleh yaitu berupa perhitungan LC_{50} dengan menggunakan *microsoft office excel* didapatkan persamaan garis lurus $y = 2,7968x - 2,8122$, lalu diamsukkan angka 5 pada nilai Y sehingga didapatkan nilai LC_{50} 621,25 mg L⁻¹. LC_{50} termasuk dalam kategori toksik jika nilainya kurang dari 1000 mg L⁻¹, menurut (Sadli et al., 2015) nilai LC_{50} sesuai dengan tingkat konsentrasinya, yaitu kategori sangat tinggi (*highly toxic*) dengan konsentrasi 1-10 mg L⁻¹, sedangkan kategori sedang (*medium toxic*) pada konsentrasi 10-100 mg L⁻¹, dan kategori rendah (*low toxic*) pada konsentrasi 100-1000 mg L⁻¹. Pada penelitian ini nilai LC_{50} sebesar 621,25 mg L⁻¹. Sedangkan dari penelitian (Setyowati, 2016) disebutkan bahwa LC_{50} dari ekstrak daun kersen yang menggunakan pelarut etanol sebesar 295,763 mg L⁻¹. Hasil penelitian tersebut sangat berbeda dengan hasil yang didapatkan pada penelitian ini. hal ini dikarenakan metode ekstraksi yang berbeda serta pemanasan yang cukup lama pada penelitian ini sehingga kandungan kimia pada daun kersen kemungkinan banyak berkurang.

Aktivitas toksik yang ada pada ekstrak daun kersen timbul karena kandungan senyawa metabolit sekunder yang dimiliki tanaman tersebut. Diantara beberapa senyawa metabolit sekunder yang dimiliki daun kersen, flavonoid diperkirakan memiliki peran terbesar dimana pada kadar tertentu, flavonoid mempunyai tingkat toksisitas akut (Setyowati, 2016). Mekanisme flavonoid yang berkaitan adalah sebagai antioksidan.

Selain flavonoid, metabolit sekunder yang lain juga berperan terhadap timbulnya aktivitas toksik dari ekstrak daun kersen yaitu dengan bertindak sebagai racun perut. Apabila

senyawa-senyawa tersebut masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu dan dapat menyebabkan kematian (Setyowati, 2016). Berdasarkan nilai LC_{50} sebesar 621,25 mg L^{-1} , maka dapat dikatakan bahwa ekstrak daun kersen memiliki aktivitas toksik dan berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut pada penelitian yang berhubungan dengan toksisitas.

KESIMPULAN

1. Uji BSLT air rebusan (dekok) daun kersen memiliki aktivitas sitotoksik terhadap *larva artemia salina* dengan nilai LC_{50} sebesar 621,25 mg L^{-1} sehingga masuk dalam kategori toksik karena memiliki $LC_{50} < 1000$ mg L^{-1} .
2. Air rebusan daun kersen mempunyai kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, dan tanin.

DAFTAR PUSTAKA

- Arwan, B., 2017. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar Samata- Gowa 98.
- BPOM RI, 2014. Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis Secara In Vivo. BPOM RI, Jakarta.
- Kosasih, E., Ana, E., Encun, 2013. Informasi singkat benih kersen/talok (*Muntingia calabura* L.). Balai pembenihan Tanaman Hutan Jawa dan Madura.
- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M., Kurniadi, B., 2008. Buku Ajar Fitokimia. Jurusan Kimia Laboratorium Kimia Organik, Surabaya.
- Kuntorini, E.M., 2013. Struktur Anatomi dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kersen 6.
- Lenny, S., 2006. Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida 25.
- Lestari, J.H.S., 2016. Dekok Daun Kersen (*Muntingia Calabura*) Sebagai Cairan Sanitasi Tangan dan Buah Apel Manalagi (*Malus Sylvestris*).
- Malangngi, L.P., Sangi, M.S., Paendong, J.J.E., Kimia, J., 2012. Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) 6.
- Millati, N., 2016. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT Senyawa Steroid Fraksi Petroleum Eter *Mikroalga chlorella* sp. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mujiman, A., 2001. Makanan ikan. Penebar swadaya, Jakarta.
- Nurhasanah, N., 2016. Isolation of Antioxidant Compound of Muntingia Calabura Linn Leave. <https://doi.org/10.13140/rg.2.1.1112.1687>
- Purnamaningsih, H., Nururrozi, A., Indarjulianto, S., 2017. Saponin: Dampak terhadap Ternak (Ulasan) 6,12.
- Redha, A., 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Perannya Dalam Sistem Biologis 7.
- Reskianingsih, A., 2014. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Buah *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl Terhadap Larva Artemia Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Universitas Islam Negeri, Jakarta.
- Sadli, Utami, N. wahyu, Sari, I., 2015. The Cytotoxic Activity Of Ethylacetatefraction of Kersen (*Muntingia Calabura*) Leaves Against Larvae Shrimp Artemia Salina Leach.
- Sari, C.I.P., 2012. Kualitas minuman serbuk Kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan variasi konsentrasi maltodekstrin dan ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.). Skripsi, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya, Yogyakarta.

- Sari, W.P., 2010. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta 145.
- Sentat, T., Pangestu, S., 2016. (*Muntingia calabura* L.) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*) Dengan Induksi Nyeri Asam Asetat⁷.
- Setyowati, W.A.E., 2016. Kandungan Kimia Dan Uji Aktivitas Toksik Menggunakan Metode Bslt (Brine Shrimp Lethality Test) ⁷.
- Sukandar, D., Hermanto, S., Lestari, E., 2007. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus maryllifolius* Roxb.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)⁸.
- Tulung, P.C., Rorong, J.A., Pontoh, J., 2017. KERSEN (*Muntingia calabura*)^{10, 5}.
- Widiastuti, R., Sary, R.R., Aini, R., 2017. Aktivitas Antelmintika Infusa Daun Kersen (*Muntingia calabura* Linn) Terhadap Cacing *Ascaridia galli* Schrank Secara In Vitro ⁴.
- Zahara, M., 2018. Kajian Morfologi dan Review Fitokimia Tumbuhan Kersen (*Muntingia calabura* L) ^{5,7}.

FORMULASI SEDIAAN GEL NANOPARTIKEL LIPID EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)**Rini Dwiastuti^{1*}, Shinta Elvina Ardiyati¹⁾**¹⁾ *Faculty of pharmacy Sanata Dharma University*

Korespondensi : rini_dwi@usd.ac.id

ABSTRACT

Binahong leaf extract has low water solubility. To increase the solubility of binahong leaf extract, it is necessary to formulate lipid nanoparticle gel dosage form. Lipid nanoparticles are preparations that can deliver both hydrophilic and lipophilic drugs. This study aims to make a gel lipid nanoparticles from binahong leaf extract with the physical properties parameters of the gel preparation. This research is an experimental study with independent variables of the concentration of binahong extract and variables depending on the size of the lipid nanoparticles and the physical properties of the gel. Gel making was done by using a variation of the amount of extract 5% and 10%. Testing the physical properties of the gel includes organoleptic, viscosity, dispersibility, pH, homogeneity, and syneresis. The physical stability test carried out is accelerated stability test using the freeze thaw cycling method for 3 cycles. Based on the results of the PSA test, of the two formulas made, one formula fulfills the range 50-100 nm. After testing the physical properties of the gel, the two formulas had a dispersion capacity within the 3-5 cm range, were homogeneous, and did not occur syneresis. The results of the viscosity test showed that the two formulas did not meet the 20-30 Pa.s. The pH test results showed that the two formulas did not meet the pH range 4.5-6.5.

Key word: binahong; lipid nanoparticle; soy lecithin, gel**ABSTRAK**

Ekstrak daun binahong memiliki kelarutan dalam air yang rendah. Untuk meningkatkan kelarutan ekstrak daun binahong, perlu dilakukan formulasi sediaan dalam bentuk nanopartikel lipid. Nanopartikel lipid merupakan sediaan yang dapat membawa obat hidrofilik maupun lipofilik. Penelitian ini bertujuan untuk membuat gel nanopartikel lipid ekstrak daun binahong yang memenuhi parameter sifat fisis sediaan gel. Penelitian ini merupakan eksperimen murni dengan variabel bebas konsentrasi ekstrak binahong dan variabel tergantung ukuran nanopartikel lipid dan sifat fisis gel. Pembuatan gel dilakukan dengan menggunakan variasi jumlah ekstrak 5% dan 10%. Pengujian sifat fisis gel meliputi organoleptis, viskositas, daya sebar, pH, homogenitas, dan sineresis. Uji stabilitas fisis yang dilakukan adalah uji stabilitas dipercepat dengan metode *freeze thaw cycling* selama 3 siklus. Berdasarkan hasil uji PSA, dari dua formula yang dibuat, satu formula memenuhi rentang 50-100 nm. Setelah dilakukan uji sifat fisik gel, kedua formula memiliki daya sebar sesuai rentang 3-5 cm, homogen, dan tidak terjadi sineresis. Hasil uji viskositas menunjukkan kedua formula tidak memenuhi rentang 20-30 Pa.s. Hasil uji pH menunjukkan kedua formula tidak memenuhi rentang pH 4,5-6,5.

Kata Kunci: binahong; nanopartikel lipid; soy lecithin, gel

PENDAHULUAN

Binahong telah dikenal masyarakat sebagai tanaman yang memiliki efek menyembuhkan luka. Daun binahong digunakan dengan cara diremas lalu ditempelkan pada kulit yang luka. Daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) memiliki kandungan saponin, flavonoid, quinon, steroid, monoterpenoid, dan sesquiterpenoid. Menurut penelitian, zat yang terdapat dalam daun binahong yang memiliki efek penyembuhan luka yaitu asam ursolat. Asam ursolat dalam ekstrak etanol daun binahong mampu memperbaiki fungsi permeabilitas barrier kulit (Nathania and Yuliani 2015). Asam ursolat diprediksi merupakan senyawa aktif yang mempunyai potensi sebagai penyembuh luka. Asam ursolat memiliki kelarutan yang rendah pada pelarut air sehingga perlu dilakukan formulasi sediaan yang dapat meningkatkan zat aktif dalam ekstrak binahong. Salah satu upaya untuk meningkatkan kelarutan zat aktif adalah dengan melakukan formulasi sediaan dalam bentuk nanopartikel.

Teknologi nanopartikel dikembangkan untuk memodifikasi efektivitas penghantaran obat. Salah satu nanopartikel yang banyak diteliti yaitu nanopartikel dengan basis lipid (nanopartikel lipid). Nanopartikel lipid memiliki biokompatibilitas yang tinggi, dapat diformulasikan ke dalam sediaan topikal, oral, dan parenteral. Selain itu, nanopartikel lipid dapat membawa obat yang lipofilik maupun hidrofilik. Nanopartikel lipid juga bersifat non toksik, non-alergenik, dan tidak bersifat iritatif. Nanopartikel lipid dapat diformulasikan dengan teknologi berbasis air sehingga dapat menghindari pelarut organik (Attama et al. 2012).

Penelitian ini menggunakan nanopartikel lipid karena sifatnya yang dapat membawa obat hidrofilik maupun lipofilik. Nanopartikel lipid ekstrak

daun binahong diformulasikan ke dalam bentuk gel dengan carbopol sebagai gelling agent. Penelitian ini bertujuan untuk membuat gel nanopartikel lipid ekstrak daun binahong dan mengetahui parameter sifat fisis sediaan gel yang telah diformulasikan. Sifat fisis yang diuji meliputi organoleptis, viskositas, daya sebar, homogenitas, pH, dan sinerisis.

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu blender, ultra turrax, particle size analyzer (PSA Horiba SZ-100), ayakan, cawan porselin, termometer, mortir dan stamper, kertas saring, timbangan analitik, oven, rotary evaporator, corong, plastic wrap, aluminium foil, hotplate magnetic stirrer, pH meter, viscometer Rheosys, kaca bundar berskala, beban 150 g, alat-alat gelas. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun binahong, etanol 96%, aquabidest, serbuk soy lecithin (Nacalai), Carbopol 940, propilen glikol, triethanolamine (TEA), gliserin.

Serbuk simplisia daun binahong dibuat dengan cara mengeringkan daun binahong yang telah dibersihkan. Daun binahong dikeringkan dengan oven bersuhu 60°C. Daun kering dihaluskan dengan blender kemudian diayak hingga lolos ayakan no. 40. Serbuk simplisia daun binahong ditimbang sebanyak 10 gram kemudian ditambahkan etanol 96% sebanyak 100 ml (perbandingan serbuk simplisia dengan etanol yaitu 1:10). Wadah ditutup dengan aluminium foil kemudian dipanaskan di atas hotplate magnetic stirrer selama 90 menit dengan kecepatan pengadukan 200 rpm dan suhu 50°C. Setelah 90 menit, campuran tersebut disaring menggunakan kertas saring. Hasil penyaringan dievaporasi menggunakan rotary evaporator sehingga didapatkan ekstrak sejumlah 25% dari volume awal (25 ml).

Serbuk soy lecithin ditimbang sebanyak 3 g kemudian dimasukkan ke dalam mortir. Aquabidest bersuhu 60°C sebanyak 50 ml dimasukkan ke dalam mortir untuk mendispersikan serbuk soy lecithin. Campuran diaduk hingga rata dan tidak ada gumpalan. Campuran tersebut kemudian diblender dengan kecepatan tinggi selama 60 detik. Campuran yang sudah diblender dihomogenkan menggunakan ultra turrax selama 60 detik dengan kecepatan skala 4. Penambahan ekstrak dilakukan sebelum proses sonikasi. Gel dengan konsentrasi ekstrak 5% diberi ekstrak sebanyak 7,5 ml sedangkan gel dengan konsentrasi ekstrak 10% diberi ekstrak sebanyak 15 ml. Setelah diberi ekstrak, campuran disonikasi selama 30 menit dengan suhu 60°C. Hasil dari sonikasi disebut nanopartikel lipid ekstrak daun binahong. Nanopartikel lipid yang telah terbentuk diuji dengan particle size analyzer (PSA) untuk mengetahui besar ukuran partikel.

Nanopartikel lipid ekstrak daun binahong dimasukkan ke dalam wadah kemudian ditaburi carbopol sebanyak 1 g. Gelas beker ditutup dengan plastic wrap dan dibiarkan selama 24 jam. Carbopol yang telah mengembang dimasukkan ke dalam mortar kemudian diberi TEA, diaduk hingga rata. Campuran carbopol-TEA kemudian dipindahkan ke blender, propilen glikol dan gliserin juga dimasukkan ke dalam blender. Campuran diblender selama 3 menit dengan kecepatan rendah.

Dilakukan pengujian sifat fisik sediaan gel dan uji stabilitas dipercepat dengan metode freeze thaw cycling selama 3 siklus. Satu siklus terdiri dari penyimpanan pada suhu 4±2 °C selama 24 jam dan suhu 40±2 °C selama 24 jam. Pengujian sifat fisik gel meliputi organoleptis, viskositas, daya sebar, homogenitas, pH, dan sineresis. Pengujian viskositas menggunakan viscometer Rheosys pada kecepatan 10 rpm.

Pengujian daya sebar dilakukan dengan cara menimbang 0,5 g gel kemudian di tengah kaca bundar. Kaca bundar yang lain diletakkan di atas gel kemudian diberi pemberat 150 g dan dидiamkan selama satu menit (Kintoko and Novitasari 2016). Pengukuran pH dengan menggunakan pH meter setelah gel selesai dibuat. Uji sineresis dilakukan dengan pengamatan terhadap ada tidaknya air yang keluar dari gel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Nanopartikel lipid yang dihasilkan berwarna kehijauan disebabkan oleh penambahan ekstrak binahong. Nanopartikel lipid yang telah terbentuk diuji dengan *particle size analyzer* (PSA) untuk mengetahui besar ukuran partikel. Pengukuran ukuran partikel nanolipid dilakukan di LPOMK UII. Ukuran partikel yang diharapkan yaitu 50-100 nm. Rentang tersebut merupakan ukuran partikel yang optimal pada sistem penghantaran obat dari liposom (Puri *et al.* 2009). Ukuran partikel nanopartikel lipid dengan 5% ekstrak binahong telah sesuai dengan yang diharapkan, yaitu berada pada rentang 50-100 nm. Sedangkan untuk nanopartikel lipid dengan 10% ekstrak binahong belum memenuhi rentang 50-100 nm. Hal ini kemungkinan disebabkan jumlah ekstrak yang lebih banyak dibandingkan nanopartikel lipid dengan 5% ekstrak sehingga ekstrak yang terenkapsulasi lebih banyak dan mengakibatkan ukuran partikel menjadi lebih besar. Jumlah obat yang terenkapsulasi berhubungan dengan ukuran partikel (Nomani and Samy 2016).

Tabel 1. Ukuran Partikel Nanopartikel Lipid Ekstrak Daun Binahong

Formula	Ukuran Partikel (nm)	Rata-rata ± SD
Gel Nanolipid 5% ekstrak binahong	68,60 68,80	68,70 ± 0,14
Gel Nanolipid 10% ekstrak binahong	117,10 117,80	117,45 ± 0,49

Gel yang dihasilkan berwarna hijau transparan, berbau khas ekstrak binahong, dan berbentuk semi solid. Gel homogen dibuktikan dengan uji homogenitas yang menunjukkan bahwa tidak terdapat partikel yang tidak rata. Setelah disimpan 3 siklus *freeze-thaw* gel tidak mengalami sineresis. Hal ini menandakan humektan yang digunakan telah melakukan fungsinya dengan baik, yaitu menjaga gel dari kehilangan air.

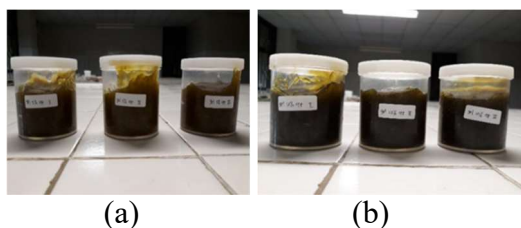


Figure 1. Gel nanopartikel lipid dengan 5% ekstrak (a) dan 10% ekstrak (b)

Uji viskositas dilakukan untuk mengetahui kekentalan suatu sediaan. Viskositas diharapkan berada pada rentang 200-300 dPa.s (20-30 Pa.s) supaya gel nyaman digunakan namun tetap melekat dengan baik (Aeni *et al.* 2012). Berdasarkan uji viskositas, gel yang dihasilkan belum mencapai target yang diharapkan karena berada di bawah 20 Pa.s. Hal ini dapat disebabkan oleh penambahan propilen glikol dan gliserin yang merupakan zat cair.

Tabel 2. Viskositas Gel

Parameter	Gel Nanolipid 5% ekstrak binahong	Gel Nanolipid 10% ekstrak binahong
Siklus 0	9,91 ± 0,37 Pa.s	9,90 ± 0,30 Pa.s
Siklus 1	11,58 ± 1,35 Pa.s	17,23 ± 13,19 Pa.s
Siklus 2	9,55 ± 0,48 Pa.s	9,73 ± 0,39 Pa.s
Siklus 3	8,48 ± 0,46 Pa.s	6,70 ± 0,16 Pa.s

Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui seberapa mudah sediaan diaplikasikan pada kulit. Daya sebar yang baik yaitu pada diameter 3-5 cm (Afianti and Murrkmihadi 2015). Rentang tersebut dipilih agar gel dapat menyebar dengan baik namun tetap dapat menempel pada kulit. Gel yang menempel dengan baik akan membuat obat dapat berpenetrasi ke dalam kulit

(Allen and Ansel 2013). Hasil uji daya sebar menunjukkan bahwa gel yang dibuat telah memenuhi kriteria daya sebar yang baik sehingga dapat dikatakan bahwa gel cukup nyaman untuk digunakan. Setelah diberi perlakuan *freeze-thaw*, gel 5% ekstrak menunjukkan peningkatan daya sebar sedangkan gel 10% ekstrak mengalami penurunan daya sebar. Meskipun terdapat perubahan daya sebar namun masih tetap dalam rentang daya sebar yang baik.

Tabel 3. Daya Sebar Gel

Parameter	Gel Nanolipid 5% ekstrak binahong	Gel Nanolipid 10% ekstrak binahong
Siklus 0	4,16 ± 0,05 cm	4,48 ± 0,09 cm
Siklus 1	4,18 ± 0,06 cm	4,43 ± 0,05 cm
Siklus 2	4,16 ± 0,080 cm	4,24 ± 0,17 cm
Siklus 3	4,18 ± 0,06 cm	4,43 ± 0,02 cm

Gel ekstrak nanopartikel lipid ekstrak daun binahong merupakan sediaan topikal. Oleh karena itu, sediaan harus memiliki pH yang sesuai dengan kulit yaitu 4,5-6,5. Jika pH tidak sesuai rentang tersebut maka dapat mengakibatkan iritasi pada kulit (Tsabitah *et al.* 2020). Berdasarkan hasil uji pH, gel yang dibuat tidak sesuai dengan syarat pH kulit. Hal ini dapat disebabkan oleh penambahan TEA yang merupakan alkalizing agent. Diduga penambahan TEA agak berlebih sehingga pH sediaan menjadi lebih dari 6,5.

Tabel 4. pH Gel

Parameter	Gel Nanolipid 5% ekstrak binahong	Gel Nanolipid 10% ekstrak binahong
Siklus 0	7,33 ± 0,06	7,63 ± 0,06
Siklus 1	7,36 ± 0,59	7,23 ± 0,80
Siklus 2	7,20 ± 0,61	6,96 ± 0,46
Siklus 3	7,26 ± 0,49	6,93 ± 0,67

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pembahasan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Gambaran terapi farmakologi dalam penanganan pasien diare rawat inap di RSUD Sleman adalah anti-

biotic Sefotaksim (41%), diberikan cairan rehidrasi melalui infus dari tanpa derajat dehidrasi sampai derajat dehidrasi berat, dengan antidiare terbanyak ialah Zinc (58%).

2. Kesesuaian terapi diare di RSUD Sleman dengan SPM dari RSUP dr. Sardjito dalam penanganan pasien diare rawat inap serta kondisi awal frekuensi BAB pasien per hari dan kondisi dehidrasi pasien.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1990. *Buku Ajar Diare, Pendidikan Medik Pemberantasan Diare*, diterjemahkan oleh Sunoto. Jakarta : Ditjen PPM dan PLP Depkes RI., 21 – 23
- Anonim, 2000, *Komite Medik RSUP Dr. Sardjito, Standar Pelayanan Medis RSUP DR. Sardjito Buku 2*, MEDIKA FK UGM, Yogyakarta.
- Anonim, 2005, *Evidence-Based Practice Guideline For The Management Of Diarrhea With Or Without Vomiting In Children : Ensuring Children With Diarrhea Receive The Best Possible Care*, Southern Health : Australia.
- Anonim. 2005. *Diarrhea Treatment Guidelines : Including New Recommendations For The Use Of ORS and Zinc Supplementation For Clinic-Based Healthcare Workers*. WHO : USA Sec 3:1.
- Anonim, 2005, *Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Saluran Pernafasan*, Dirjen Bina Kefarmasian Dan Alat Kesehatan DEPKES RI : Jakarta, hal. 27-28. 30-32. 33-39.
- Anonim. 2006. *Pedoman Penggunaan Obat Bebas Dan Bebas Terbatas*. Direktorat Bina Farmasi Komunitas Dan Klinik, DITJEN Bina Kefarmasian Dan Alat Kesehatan, Departemen Kesehatan RI : Jakarta. Hal. 40-43.
- Anonim, 2006, *Amoksisilin*, [http : / / dinkes.tasikmalayakota.go. Id / index. php/informasi-obat/211-amoksisilin.html](http://dinkes.tasikmalayakota.go.id/index.php/informasi-obat/211-amoksisilin.html) (diakses tanggal 3 Maret 2013)
- Anonim, 2007, *Use Antibiotics In Adults (Penggunaan Antibiotik Di Kalangan Orang Dewasa) Edisi 1*, Health Promotion Board, Singapore.
- Anonim. 2010. *General Recommendations Regarding Diarrhea*. California Childcare Health Program, University of California. 1-2.
- Anonim. 2011. *Gastroenteritis*, [www.medicastore.com / gastroenteritis.html](http://www.medicastore.com/gastroenteritis.html) accessed 31 Oktober 2011.
- Anonim, 2011, *Buletin Jendela Data & Informasi Kesehatan Triwulan II : Situasi Diare Di Indonesia*, Jakarta : Kementerian Kesehatan RI.
- Anonim, 2012, *Koran Indonesia Sehat : Atasi Diare Pada Orang Dewasa Perlu Obat?*, Yudhasmara Publisher, Jakarta
- Anonim, 2013, Amoksisilin : Kegunaan & Efek Sampingnya, *Majalah Kesehatan*, 28 Februari 2013 (<http://majalahkesehatan.com/amoksisilin-kegunaan-dan-efek-sampingnya/> diakses tanggal 3 Maret 2013)
- Asih S., Retno and Landia S., and Makmuri MS., 2006, *Continuing Education, Ilmu Kesehatan Anak XXXVI*, Kapita Selektta Ilmu Kesehatan Anak VI, Divisi Respirologi Bagian Ilmu Kesehatan Anak FK UNAIR RSU Dr. Soetomo : Surabaya.
- Bellido-Blasco, JB & A. Amedo-Pena. 2011. Epidemiology of Infectious Diarrhea, *Elsevier B. V.*, Public

- Health Center of Castello'n, Spain.
- Binder, HJ, M.D. 1990. Pathophysiology of Acute Diarrhea, *The American Journal Of Medicine.*, 88 (6A) : 2S – 4S
- Dipiro, JT. *et. al.* 2008. *Pharmacotherapy : Pathophysiologic Approach, Seventh Edition.* The McGraw-Hill Companies : USA. Page 617 – 623.
- Giannella, RA., *et all.* 1999. Acute Diarrhea : A Practical Review, *The American Journal Of Medicine.*, 106 : 670 – 676.
- Goulet O, Seidman EG. 2004. *Gastrointestinal manifestation of immunodeficiency. Primary immunodeficiency disease.* In: Walker WA, Goulet O, Kleinman RE, Sherman PM, Shneider BL, Sanderson IR ed. *Pediatric gastrointestinal disease pathophysiology diagnosis management vol 1, 4th ed.* Ontario : Allan Walker, 707-41
- Green Berger, NJ., *et all.* 2009. *Current Diagnosis & Treatment Gastroenterology, Hepatology, Endoscopy.* Mc Graw Hill : USA.
- Grimwood, Keith & David A. Forbes. 2009. Acute And Persistent Diarrhea, *Pediatr Clin N Am*, dipublikasikan by Elsevier Inc., 56 : 1343 – 1361
- Hariato. 2004. Penyuluhan Penggunaan Oralit Untuk Menanggulangi Diare Di Masyarakat. *Majalah Ilmu Kefarmasian Vol. 1 No. 3 April 2004.*
- . 2010. Pharmacological Management of Diarrhea, *Gastroenterol Clin N Am*, Published by Elsevier Inc., 39 : 495 – 507
- Karuniawati, F. 2010. Pengaruh Suplementasi Seng Dan Probiotik Terhadap Durasi Diare Akut Cair Anak, *Thesis*, Program Pascasarjana Magister Ilmu Biomedik, Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Ma'arij, NFN. 2009. Identifikasi *Drug Related Problems (DRPs)* Dalam Pengobatan Diare Pada Anak Di Instalasi rawat Inap Rumah Sakit Umum Daerah Wonogiri Tahun 2007. *Skripsi.* Fakultas Farmasi, Univeristas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Manoppo, Christie. 2010, Dampak Pemberian Seng Dan Probiotik Terhadap Lama Diare Akut Di Rumah Sakit DR. RD. Kandou, Manado, *Sari Pediatri*, 12 (1) : 17-20
- Pickering, LK. 1991. Therapy For Acute infectious Diarrhea In Children, *The Journal Of Pediatrics*, 118 (4 part 2) : S118 – S128
- Prastowo, FA. 2009. Asuhan Keperawatan Tn. S Dengan Gangguan Sistem Pencernaan Diare Di Bangsal Melati RSUD Sragen, *Skripsi*, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Rajamanickam, V., *et all.*, 2010. Anti-diarrheal Activity Of *Dodonea viscosa* Root Extracts. *International Journal of Pharma and Biosciences.* 1 : Ph 182 – Ph 185.
- Rosalina I. 2007. *Efikasi pemberian zinc pada diare dalam Naskah lengkap Konggres nasional III Badan Koordinasi Gastroenterologi Anak Indonesia. Penanganan optimal masalah saluran cerna dan hati pada anak.* Surabaya : BKGAI.
- Rosyatyawati, S. 2011. Evaluasi Pengobatan Diare Pada Anak Di

- Instalasi Rawat Inap Rumah Sakit
PKU Muhammadiyah Yogyakarta
Periode Januari – Desember 2009,
Skripsi, Fakultas Farmasi
Universitas Gadjah Mada,
Yogyakarta.
- Saepulloh, Muharram. 2005. Potensi
Infeksi Virus Rota Sebagai
Penyakit Zoonosis Penyebab
Diare Pada Anak-anak, *Laporan
Penelitian*, Balai Penelitian
Veteriner, Bogor.
- Seidman E. 1995. *Immune homeostasis
and the gut*. In: Roy CC, Silver-
man A, Alagille D ed. *Pediatric
clinical gastroenterology. 4th ed.*
Missouri : Mosby, 388–99
- Suraatmaja, S. 2007. *Kapita Selekta :
Gastroenterologi Anak*. Sagung
Seto : Jakarta.
- Taketomo, Carol K. *et. all.* 2000.
*Pediatric Dosage handbook 6th
edition*. USA : Lexi-comp Inc
- Thielman, Nathan M. MD. MPH.,
Richard L. Guerrant, MD., 2004,
Acute Infectious Diarrhea, *The
New England Journal Of
Medicine*, 350 (3) : 8-47