

Vol. 8 No. 3 Desember 2021



# Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia

E-ISSN: 2580-8303

P-ISSN: 2406-9388



DITERBITKAN OLEH:  
FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA berkolaborasi dengan  
IKATAN APOTEKER INDONESIA (IAI) PENGURUS DAERAH JAWA TIMUR



Terakreditasi SINTA 2  
No: B/1796/E5.2/KI.02.00/2020

## Susunan Dewan Redaksi Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia (JFIKI)

### Penanggung Jawab:

Prof. Junaidi Khotib, M.Kes., Ph.D., Apt.

### Dewan Redaksi

#### Ketua:

Elida Zairina, S.Si, MPH., Ph.D., Apt.

#### Wakil Ketua:

Suciati, S.Si., M.Phil., Ph.D., Apt.

#### Anggota:

Dr.rer.nat Maria Lucia Ardhani D. L., M.Pharm, Apt.

Susmiandri, S.Kom.

### Mitra Bestari

Dr. Dewi Isadiartuti, M.Si., Apt.

Dr. Tri Widiandani, S.Si., Sp.FRS., Apt.

Dr. Juni Ekowati, M.Si., Apt.

Dr. Noorma Rosita, M.Si., Apt.

Dr. Yudi Wicaksono, S.Si., M.Si., Apt.

Dr. Ika Puspita Sari, S.Si., M.Si., Apt.

Dr. Aguslina Kirtishanti, S.Si, M.Kes, Apt.

Dr. Susi Ari Kristina, M.Kes., Apt.

Dr. Iis Wahyuningsih, M.Si., Apt.

Dr. Tatang Irianti, M.Sc., Apt.

Dr. Tri Murti Andayani, Sp.FRS., Apt.

Dr. Lisa Aditama, S.Si., M.Farm-Klin, Apt.

Rr. Retno Widyowati, S.Si., M.Pharm, Ph.D., Apt.

Tutik Sri Wahyuni, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt.

Andi Hermansyah, S. Farm., M. Sc., Ph.D., Apt.

Pinus Jumaryatno, S.Si., M.Phil., Ph.D., Apt.

Neily Zakiyah, M.Sc., Ph.D, Apt.

Rudiyansyah, S.Si, M.Si, Ph.D.

Mufarrihah, S.Si., M.Sc., Apt.

Neny Purwitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.

Gesnita Nugraheni, S.Farm., M.S., Apt.

Anita Purnamayanti, S.Si., M.Farm-Klin., Apt.

Farida Ifadotunnikmah, M.Sc., Apt.

Deka Prismawan, S.Farm., M.Sc., Apt.

**Fakultas Farmasi Universitas Airlangga  
Gedung Nanizar Zaman Joenoes**

**Jl. Dr. Ir. H. Soekarno Surabaya 60115**

**Tlp. (031) 5933150, Fax. (031) 5932594**

**Website:**

<http://e-journal.unair.ac.id/index.php/JFIKI>

**Email : jfiki@ff.unair.ac.id**

Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia (JFIKI) P-ISSN:2406-9388; E-ISSN:2580-8303 adalah jurnal resmi yang diterbitkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang artikelnya dapat diakses dan diunduh secara *online* oleh publik.

Jurnal ini adalah jurnal *peer-review* nasional yang terbit dua kali dalam setahun tentang topik-topik keunggulan hasil penelitian di bidang pelayanan dan praktek kefarmasian, pengobatan masyarakat, teknologi kefarmasian serta disiplin ilmu kesehatan yang terkait erat. Jurnal ini memfokuskan pada area-area berikut:

1. Farmasi Klinis
2. Farmasi Komunitas
3. Farmasetika
4. Kimia Farmasi
5. Farmakognosi
6. Fitokimia

Naskah yang terpilih untuk dipublikasikan di JFIKI akan dikirim kepada dua *reviewer* yang pakar di bidangnya, yang tidak berafiliasi dengan lembaga yang sama dengan penulis dan dipilih berdasarkan pertimbangan tim editor. Proses *review* dilakukan secara tertutup dimana penulis dan *reviewer* tidak mengetahui identitas dan afiliasi masing-masing. Setiap naskah yang didelegasikan ke anggota redaksi diperiksa untuk keputusan akhir proses *review*, komentar dan saran akan dikirim ke penulis untuk menanggapi ulasan *reviewer* dan mengirim kembali naskah revisi dalam waktu yang telah ditentukan. Naskah yang diterima untuk publikasi adalah salinan yang telah melalui proses *editing* untuk tata bahasa, tanda baca, gaya cetak, dan format. Seluruh proses pengajuan naskah hingga keputusan akhir untuk penerbitan dilakukan secara *online*.

## Daftar Isi

| No | Artikel  | Hal     |
|----|--|---------|
| 1. | <b>The Effect of Serotonin-Norepinephrine Reuptake Inhibitor Milnacipran on Anxiety-like Behaviors in Diabetic Mice</b><br><br>Tuhfatul Ulya, Chrismawan Ardianto, Mahardian Rahmadi, Dewi Wara Shinta, Junaidi Khotib                                       | 200-206 |
| 2. | <b>Analisis Faktor-Faktor Klinik yang Mempengaruhi Kualitas Hidup Pasien Katarak di Rumah Sakit Dr. YAP, Yogyakarta</b><br><br>Rizky Hidayaturahmah, Tri Murti Andayani, Susi Ari Kristina   | 207-216 |
| 3. | <b>Evaluasi Penggunaan Antibiotik pada Pasien Sepsis Neonatus di Rumah Sakit X Purwakarta</b><br><br>Rani Hendiyani, Wawaimuli Arozal, Hesty Utami Ramadaniati   | 217-226 |
| 4. | <b>Karakterisasi Karbamazepin Hasil Rekrystalisasi Berbagai Pelarut Organik dengan Metode <i>Slow Evaporation</i></b><br><br>Indra, Rendi Rahman, Rika Yulianti  | 227-234 |
| 5. | <b>Uji Aktivitas Senyawa Bahan Alam terhadap Enzim Mpro pada SARS-CoV-2 Secara <i>In Silico</i></b><br><br>Syahrul Hidayat, Afifah Cahyohartoto, Ayu Utami Dewi, Izzah Al Mukminah, Oktavia Sabetta Sigalingging   | 235-241 |
| 6. | <b>Molecular Docking of Compounds in <i>Moringa oleifera</i> Lam with Dipeptidyl Peptidase-4 Receptors as Antidiabetic Candidates</b><br><br>Indah Permata Rendi, Gabriella Josephine Maranata, Hasna Chaerunisa, Nurulita Nugrahaeni, Siti Sarah Alfathonah | 242-249 |
| 7. | <b>Pengetahuan dan Ketepatan Apoteker dalam Pemusnahan Obat Sisa, Obat Rusak dan Obat Kedaluarsa</b><br><br>Hananditia Rachma Pramestutie, Ratna Kurnia Illahi, Ayuk Lawuningtyas Hariadini, Tamara Gusti Ebtavanny, Malyda Savira                           | 250-258 |
| 8. | <b><i>In Vitro</i> Antimalarial Activity and Toxicity of <i>Helianthus annuus</i> L. Leaf Extract against <i>Plasmodium falciparum</i></b><br><br>Nuriha Marangoh, Suciati, Wiwied Ekasari   | 259-263 |

9. **Pengembangan Sediaan Emulgel Antioksidan dan Tabir Surya Mengandung Ekstrak Kulit Buah Cokelat (*Theobroma cacao* L)** 264-270  
Sani Ega Priani, Rizki Anggara Permana, Mira Nurseha, Ratih Aryani
  10. **Molecular Docking of Mangostin and Sinensetin Derivatives on SUR1-Pancreatic K<sub>ATP</sub> Channel Target as Antidiabetic** 271-276  
Intan Kris Prasetyanti, Sukardiman, Suharjono
  11. **Perbandingan Metode Sintesis Senyawa 1-benzil-3-(4-etil-benzoil)urea dan 1-benzil-3-(4-klorometil-benzoil)urea sebagai Calon Obat Antikanker** 277-283  
Farida Suhud, Daryono Hadi Tjahjono, Tegar Achsendo Yuniarta, Galih Satrio Putra, Melanny Ika Sulistyowaty
  12. **Comparative Analysis of Actual Cost and INA CBG Rate in Diabetic Gangrene Inpatients** 284-292  
Diajeng Putri Kinanti, Umi Athiyah, Yunita Nita, Muhammad Noor Diansyah
  13. **Linguistic Validation of Indonesian Version of the Audit of Diabetes-Dependent Quality of Life Questionnaire** 293-300  
Putri Amelia Rooswita, Yunita Nita, Elida Zairina, Gesnita Nugraheni, Libriansyah
-

## The Effect of Serotonin-Norepinephrine Reuptake Inhibitor Milnacipran on Anxiety-like Behaviors in Diabetic Mice

Tuhfatul Ulya<sup>1</sup>, Christmawan Ardianto<sup>2\*</sup>, Mahardian Rahmadi<sup>2</sup>, Dewi Wara Shinta<sup>2</sup>, Junaidi Khotib<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Master Program of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

<sup>2</sup>Department of Pharmacy Practice, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

\*Corresponding author: [chrismawan-a@ff.unair.ac.id](mailto:chrismawan-a@ff.unair.ac.id)

Submitted: 14 September 2020

Accepted: 22 October 2020

Published: 30 November 2021

### Abstract

**Background:** Diabetes mellitus is a chronic disease that causes neuronal plasticity and increased hypothalamic pituitary adrenal (HPA) axis of stress disorders. The change in metabolism is reportedly associated with inadequate response to antianxiety and antidepressant agents. **Objective:** This study aimed to determine the effect of milnacipran antidepressants on anxiety-like behavior in mice with diabetes mellitus. **Methods:** Male ICR mice were divided into naive, stress, diabetes mellitus (DM), DM + stress groups to measure anxiety-like behavior. Diabetes mellitus was induced using alloxan, and electric footshock stress was used as a stressor for 14 consecutive days. Anxiety-like behavior was measured using the light-dark box (LDB) and elevated plus maze (EPM) test at days 0, 7 and 14. The antidepressant milnacipran (MIL) was given for 7 days, on days 8 to 14. On day 14, evaluation of anxiety-like behavior after administration of MIL was carried out in all groups using LDB and EPM tests. **Results:** The results showed that administration of milnacipran effectively ameliorated anxiety-like behavior in the non-DM, but not in the DM group, using the LDB test. A similar result was demonstrated in the EPM test showing the non-DM group's attenuation after milnacipran administration. **Conclusion:** The present results indicate that there is an inadequate attenuation of the anxiety-like behavior after treatment with milnacipran in diabetes conditions.

**Keywords:** antidepressant, anxiety-like behaviors, diabetes mellitus, electric footshock stress, milnacipran

### Abstrak

**Pendahuluan:** Diabetes melitus merupakan penyakit kronis yang menyebabkan plastisitas saraf dan peningkatan aktivitas *hypothalamic pituitary adrenal (HPA) axis* yang berhubungan dengan gangguan psikologis terkait stres. Gangguan metabolik pada kondisi diabetes dilaporkan memperburuk respon individu dengan gangguan psikologis terkait stres terhadap obat anti-cemas dan antidepresan. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian antidepresan milnacipran terhadap perilaku kecemasan mencit diabetes melitus. **Metode:** Mencit ICR jantan dibagi menjadi kelompok naif, stres, diabetes melitus (DM), DM + stres, untuk mengukur *anxiety-like behavior*. Diabetes melitus diinduksi menggunakan aloksan, dan *electric footshock stress* digunakan sebagai stressor selama 14 hari berturut-turut. *Anxiety-like behavior* diukur menggunakan uji *light-dark box (LDB)* dan *elevated plus maze (EPM)* pada hari ke 0, 7, dan 14. Antidepresan milnacipran (MIL) diberikan selama 7 hari, pada hari ke-8 sampai 14. Pada hari ke-14, evaluasi *anxiety-like behavior* setelah pemberian MIL dilakukan pada kelompok naif, stress, stress + MIL, DM + stress, DM + stress + MIL menggunakan uji LDB dan EPM. **Hasil:** Pemberian milnacipran hanya efektif memperbaiki *anxiety-like behavior* pada kelompok non-DM (stres + MIL), tetapi tidak pada kelompok DM dengan uji LDB. Uji EPM menunjukkan hal yang sama, kelompok DM tidak menunjukkan perbaikan *anxiety-like behavior* setelah pemberian milnacipran. **Kesimpulan:** Pemberian antidepresan milnacipran tidak memperbaiki *anxiety-like behavior* pada mencit diabetes mellitus.

**Kata kunci:** antidepresan, *anxiety-like behavior*, diabetes melitus, *electric footshock stress*, milnacipran

## INTRODUCTION

Diabetes mellitus is a metabolic disease that decreases the quality and life expectancy (Qiu *et al.*, 2016). The increasing prevalence of diabetes causes socioeconomic and psychological pressures, a big challenge for individuals (Li *et al.*, 2019). Structural and neurophysiological changes in the central nervous system caused by diabetes is associated with cognitive deficits and psychiatric disorders (Myers *et al.*, 2013; Qiu *et al.*, 2016). In diabetes mellitus, there is a decrease in hippocampal neurogenesis and neuroplasticity changes associated with depression and anxiety disorders (Ho *et al.*, 2013).

Depression is a heterogeneous disorder due to changes in monoamine neurotransmitters in the brain, especially norepinephrine (NE) and serotonin (5-HT) (Li *et al.*, 2020). Depression as comorbid diabetes was classically introduced 300 years ago (Moulton *et al.*, 2015). The likelihood of depression in diabetes mellitus patients ranges from 10 - 15%, two times greater than in the non-diabetic population (Sartorius, 2018). Comorbid depression in diabetes mellitus patients is also associated with poor outcomes. Diabetes mellitus patients with depression have more difficulty controlling blood glucose levels and have unhealthy lifestyles (Li *et al.*, 2019). In vivo studies show that depression is determined by measuring experimental animals anxiety levels (Kamei *et al.*, 2003).

Improvement of mental conditions, glycemic control and good outcomes is commonly obtained through pharmacological therapy, psychotherapy or a combination of both (Li *et al.*, 2019). Various types of drugs that act on the central nervous system have been used clinically as therapeutic agents. However, an effective treatment strategy for anxiety and depression in diabetes mellitus has not been established.

The effectiveness of serotonin noradrenaline reuptake inhibitors (SNRI) on anxiety disorders has been established in clinical trials. However, the therapeutic effect of these drugs varies depending on the type of anxiety disorder (Miyamoto *et al.*, 2004). Milnacipran is an SNRI group that simultaneously inhibits 5-HT and NE reuptake (Bourin *et al.*, 2005). Murthi & Vaillancourt (2019), in their research, proved that 5-HT might also act as a factor in maintaining normoglycemia. The use of SNRI in the animal study of anxiety-like behaviors showed an increase in the frequency and time of mice entering the open arms (Takeuchi *et al.*, 2010). In addition, milnacipran reduces immobility time in stress-induced mice (Mochizuki *et*

*al.*, 2002). However, there is a lack of evidence showing the efficacy of milnacipran on the anxiety-like behavior of diabetic mice. Thus, the present study investigated the effect of milnacipran on anxiety-like behaviors in diabetes mellitus.

This study measured anxiety-like behavior after milnacipran treatment in diabetes mellitus mice using the light-dark box (LDB) and elevated plus maze (EPM) tests. These methods are based on the principle that rodents do not prefer to stay in open spaces and heights (Bisong *et al.*, 2018). The diabetes mellitus model was developed using alloxan. Alloxan induces diabetes through a partial degradation mechanism of pancreatic beta cells, which affects the quality and quantity of insulin (Ighodaro *et al.*, 2017). The electric footshock as a stress stimulus was used to induce anxiety-like behaviors in mice. It is known that many studies effectively produce an adequate anxiety-like state and fear response through inescapable electric foot shock exposure (Silva *et al.*, 2020).

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

Milnacipran hydrochloride (Ace Pharmaceuticals, Japan), alloxan monohydrate (Sigma-Aldrich, Germany), citrate buffer pH 4.5 (Sigma-Aldrich).

### Tools

Light dark box test apparatus, elevated plus maze test apparatus, electric footshock apparatus, stopwatch, Easy Touch® blood glucose monitoring system.

### Animals

Male (6 - 10 weeks old) ICR mice, weighing between 26 and 30 g, were used. All mice were maintained at a regulated temperature ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) and humidity ( $60 \pm 10\%$ ) in a 12:12 h diffuse light/dark cycle with free access to food and water. All experiments were performed at the Animal Research Laboratory of the Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia. The design and conduct of the study were in accordance with Helsinki's guidance on animal welfare. All effort was done to reduce the animal number and suffering.

### Experimental design and treatments

Mice were divided into naive, stress, diabetes mellitus (DM), and DM + stress groups in experiment I ( $n = 8$ ). Diabetes mellitus was induced using a single injection of alloxan. An Anxiety-like state was induced by electric footshock stimulus (0.45 mA, 1 s) 30 times with 9-second intervals for 14 consecutive days. Naive mice as the control group received a normal saline

injection and were placed in the electric chamber for 6 minutes a day without shock stimulus. Evaluation of anxiety-like behavior was measured using the light-dark box (LDB) and elevated plus maze (EPM) test at days 0, 7 and 14. In experiment II (n = 12), an evaluation of anxiety-like behavior after administering milnacipran (MIL) was carried out in the naive, stress, stress + MIL, DM + stress, DM + stress + MIL on day 14. The antidepressant milnacipran at a dose of 20 mg/Kg, reportedly effective in ameliorating anxiety-like behavior (Takeuchi *et al.*, 2010) was given for seven days, on days 8 to 14.

Milnacipran was dissolved in saline and administered orally. The drug was given once a day.

#### **Alloxan-induced diabetes mellitus**

Mice were induced with diabetes mellitus by injecting alloxan 170 mg/Kg intraperitoneally (Ighodaro *et al.*, 2017). Alloxan monohydrate was dissolved in a citrate buffer pH 4.5. The blood glucose levels of the mice were checked 48 h after injection with a strip test. Mice with blood glucose levels  $\geq 200$  mg/dL or 11.1 mmol/L are considered to have diabetes mellitus.

#### **The electric footshock stress procedure**

Mice were put into a box measuring 18 x 15 cm with a grid floor from steel, the middle of the box was given a bulkhead. Stress was induced by an inescapable electric footshock with a voltage of 0.45 mA, 60 volts, as previously described (Seo, 2018). A set of electric footshocks has a duration of 1 sec, repeated 30 times at 9-sec intervals. The stress-induced group received two sets of electric footshocks per day. Electric footshocks were exposed for 14 days.

#### **Light dark box (LDB) test**

The protocol was performed following the previous study (Zhang *et al.*, 2020). The instrument used consists of two boxes separated by a bulkhead and connected by a door (5 x 5 cm). The light box (27 x 18 x 18 cm) is lit with a white 60-watt incandescent bulb. The dark box (18 x 18 x 18 cm) is completely black. Both are equipped with cameras to record the movements of

mice. Mice were placed in a light box facing the door and allowed to explore both boxes for 5 min. The time spent in each box was recorded. The percentage of time spent in the light box was also calculated.

#### **Elevated plus maze (EPM) test**

The protocol was performed following the previous study (Walia *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2020). The apparatus consists of two open and closed arms (each 30 x 6 cm). Closed arm surrounded by 15 cm wall. The arms cover the central area of the maze with a size of 5 x 5 cm. The apparatus is placed 50 cm above the floor. The mice were placed in the centre area, facing the open arms and exploring the arms for 5 minutes. A camera was positioned above the apparatus to record mice activity. The number of entries to the open arm was recorded, and the percentage was calculated. The movement of mice was calculated when all four legs entered the arm.

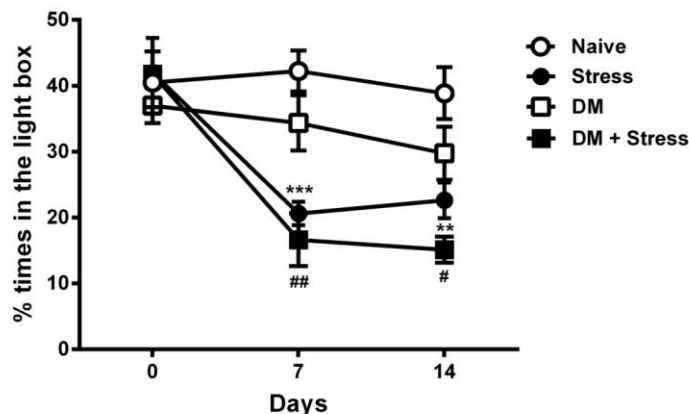
#### **Statistical analysis**

Data are presented as mean  $\pm$  SEM. Measurement of anxiety-like behavior using the LDB and EPM tests at several time points were analyzed using the two-way ANOVA test, followed by the Bonferroni post-hoc test. Meanwhile, the measurement of anxiety-like behavior after milnacipran administration was analyzed using the one-way ANOVA test, followed by the Bonferroni post hoc test. The difference was considered significant if  $p < 0.05$  (95%).

## **RESULTS AND DISCUSSION**

### **The effect of stress induction on anxiety-like behaviors**

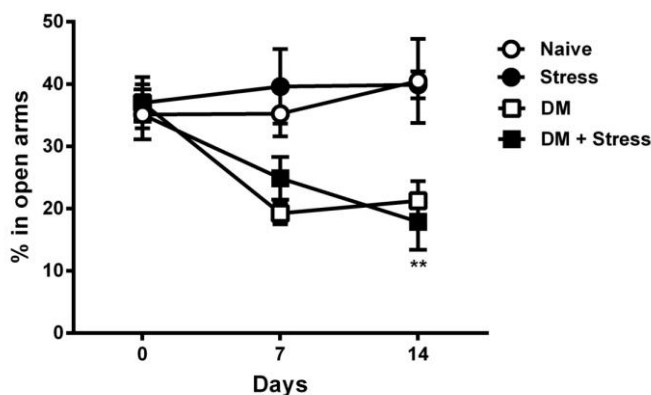
This study observed stress-induced diabetes mellitus mice using the electric footshock method with the light-dark box (LDB) and elevated plus maze (EPM) tests. The LDB test showed that the stress group significantly reduced time spent in the light box compared to the naive group, seen on days 7 and 14. In addition, the DM + stress group also showed the same results compared to the DM group (Figure 1).



**Figure 1.** The effect of electric footshock stress induction on anxiety-like behaviors in mice with diabetes mellitus measured by light-dark box test (mean ± SEM) of 8 mice. \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001 vs naive group. #p < 0.05, ##p < 0.01 vs DM group. DM, diabetes mellitus

On the other hand, EPM test results showed no difference in the percentage of open-arm exploration between the stress and naive groups. However, a significant difference was found in the DM + stress

group, which had a lower percentage of open-arm exploration than the inexperienced group at day 14 (Figure 2).



**Figure 2.** The effect of electric footshock stress induction on anxiety-like behaviors in mice with diabetes mellitus measured by elevated plus-maze test (mean ± SEM) of 8 mice. \*\*p < 0.01 vs naive group. DM, diabetes mellitus

This result suggests that the present method of stress induction successfully induces anxiety-like behavior reflected in LDB, but not the EPM test. This condition might be due to the severity of stress stimulus during installation that may produce a differential anxiety-like response to specific situations, such as light space or open space stimulus. Moreover, it is known that anxiety with complex emotional states may not be generalized as an expression of a single established behavior.

The difference in EPM conditions and equipment was a factor in the different results. Previous studies of stress induction by the electric footshock method in experimental animals 24 and 48 h before measurement showed no difference in the percentage of time spent in

mice in open arms (Grahn *et al.*, 1995). Another study comparing the effectiveness of test results between elevated zero maze (EZM) and EPM during repeated trials showed behavior in EZM remained relatively stable for several trials and was more suitable than EPM for anxiety experiments (Tucker & McCabe, 2017).

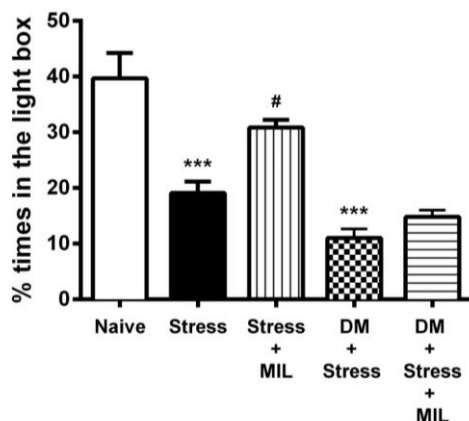
However, the results of the two tests in this study indicate that the condition of diabetes mellitus with stress possibly increases anxiety-like behaviors in experimental animals compared to diabetes mellitus and/or naive conditions alone. This result is in accordance with previous studies that showed an increase in the severity of anxiety in streptozotocin-induced diabetes mellitus mice (Yuan *et al.*, 2019).



**The effect of milnacipran treatment against anxiety-like behaviors**

The results showed that administration of milnacipran effectively ameliorated anxiety-like behavior measured with the LDB test in the non-DM

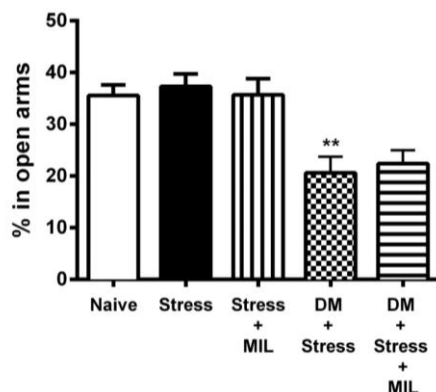
group (stress + MIL), but not in the DM group (DM + stress + MIL, Figure 3). This result was demonstrated by the increased time spent in the light box only in the stressed group given milnacipran.



**Figure 3.** The effect of milnacipran on percentage time spent in the light box in diabetes mellitus mice with anxiety-like behaviors, measured by light-dark box test at day 14 (mean ± SEM) of 12 mice. \*\*\*p < 0.001 vs naive group. #p < 0.05 vs stress group. DM, diabetes mellitus; MIL, milnacipran

Similarly, the EPM test results showed that milnacipran did not affect the anxiety-like behavior in the stressed DM group. The present study showed no

attenuation in the decreased percentage of open-arm exploration compared to the group without milnacipran administration (Figure 4).



**Figure 4.** The effect of milnacipran on the percentage of open-arm exploration in diabetes mellitus mice with anxiety-like behaviors was measured by elevated plus maze test at day 14 (mean ± SEM) of 12 mice. \*\*p < 0.01 vs naive group. DM, diabetes mellitus; MIL, milnacipran

Diabetes mellitus has been reported to increase anxiety-like behaviors. Animals with anxious behavior exhibit lower extracellular serotonin levels than normal animals. It is said that decreased serotonin levels is closely associated with anxiety. Furthermore, it is known that there is a change in serotonin activity in diabetic conditions. The animal model for DM exposed to stress stimulus demonstrates lower extracellular serotonin levels in the hypothalamus than those without stress induction and non-diabetic stressed animal (Thorré *et al.*, 1997). In addition, serotonin modulates noradrenaline (NA) activity. A decrease in serotonin

levels is associated with reducing NA levels (Moret *et al.*, 2011). Milnacipran, an antianxiety drug used in the present study, is an SNRI drug that inhibits serotonin and NA uptake with the same potency, without any affinity for dopaminergic transporters (Bourin *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2020).

The present results show that milnacipran is not effective at attenuating anxiety-like behaviors in diabetes mellitus. The effect of milnacipran may be lowered due to the changes in the brain's serotonin and NA systems. However, it is also possible that increasing the dose of milnacipran may attenuate anxiety-like

behaviors in diabetes mellitus. The study by Takeuchi *et al.* (2010) showed a dose-dependent of milnacipran increased the time spent in open-arms and the number of open-arm entries. Further research is needed to clarify this issue and the exact mechanisms.

Moreover, previous research has shown a correlation between changes in the brain's glial cells of diabetic mice with anxiety phenotypes. In addition, it was reported that astrocyte activation is found in the hippocampus of diabetic mice, the area that contributes to the development of fear memory and depression (Saravia *et al.*, 2002). Studies showed that the marker protein for astrocyte activation, GFAP, is precisely regulated together with the upregulation of IL-6, indicating a neurological inflammatory response in the CNS of diabetic mice (Qiao *et al.*, 2016; Yuan *et al.*, 2019). This condition suggests that anxiety states in diabetes mellitus comprise complex changes in the neurotransmission system that may affect the efficacy of pharmacological treatment. It remains to be explored whether the different classes of antianxiety demonstrate distinctive tolerability for treating anxiety in diabetic conditions.

## CONCLUSION

It is concluded that the antianxiety effect of milnacipran has deteriorated in diabetes mellitus mice. Furthermore, it is suggested that there is a differential anxiety-like response from the EPM and LDB method for anxiety measurement.

## ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by Ministry of Education, Culture, Research and Technology with PDUPT grant (Dr. Chrismawan Ardianto) and Tahir Foundation Professorship funding in 2020. We thank to Ms. Nadiyah for the excellent technical assistance.

## REFERENCES

Bisong, S. A., Nku, C. O., Nwoke, K. U. & Osim, E. E. (2018). Crude Aqueous Leave Extract of *Carica papaya* linn (Pawpaw) Reduced Anxiety and Fear Related Behaviour in cd1 Mice. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*; 5; 488–493.

Bourin, M., Masse, F., Dailly, E. & Hascoët, M. (2005). Anxiolytic-like Effect of Milnacipran in the Four-Plate Test in Mice: Mechanism of Action. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*; 81; 645–656.

Grahn, R. E., Kalman, B. A., Brennan, F. X., Watkins, L. R. & Maier, S. F. (1995). The Elevated Plus-Maze is not Sensitive to the Effect of Stressor Controllability in Rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*; 52; 565–570.

Ho, N., Sommers, M. S. & Lucki, I. (2013). Effects of Diabetes on Hippocampal Neurogenesis: Links to Cognition and Depression. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*; 37; 1346-1362.

Ighodaro, O. M., Adeosun, A. M. & Akinloye, O. A. (2017). Alloxan-Induced Diabetes, a Common Model for Evaluating the Glycemic-Control Potential of Therapeutic Compounds and Plants Extracts in Experimental Studies. *Medicina (Lithuania)*; 53; 365–374.

Kamei, J., Miyata, S., Morita, K., Saitoh, A. & Takeda, H. (2003). Effects of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors on Immobility Time in the Tail Suspension Test in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*; 75; 247–254.

Li, H. Q., Chi, S., Dong, Q. & Yu, J. T. (2019). Pharmacotherapeutic Strategies for Managing Comorbid Depression and Diabetes. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*; 20; 1589–1599.

Li, J., Lu, C., Gao, Z., Feng, Y., Luo, H., Lu, T., Sun, X., Hu, J. & Luo, Y. (2020). SNRIs Achieve Faster Antidepressant Effects than SSRIs by Elevating the Concentrations of Dopamine in the Forebrain. *Neuropharmacology*; 177; 1-11.

Miyamoto, J., Tsuji, M., Takeda, H., Ohzeki, M., Nawa, H. & Matsumiya, T. (2004). Characterization of the Anxiolytic-Like Effects of Fluvoxamine, Milnacipran and Risperidone in Mice Using the Conditioned Fear Stress Paradigm. *European Journal of Pharmacology*; 504; 97–103.

Mochizuki, D., Tsujita, R., Yamada, S., Kawasaki, K., Otsuka, Y., Hashimoto, S., Hattori, T., Kitamura, Y. & Miki, N. (2002). Neurochemical and Behavioural Characterization of Milnacipran, a Serotonin and Noradrenaline Reuptake Inhibitor in Rats. *Psychopharmacology*; 162; 323–332.

Moret, C. & Briley, M. (2011). The Importance of Norepinephrine in Depression. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*; 7; 9–13.

Moulton, C. D., Pickup, J. C. & Ismail, K. (2015). The Link between Depression and Diabetes: the Search for Shared Mechanisms. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*; 3; 461–471.

- Murthi, P. & Vaillancourt, C. (2019). Placental Serotonin Systems in Pregnancy Metabolic Complications Associated with Maternal Obesity and Gestational Diabetes Mellitus. *BBA-Molecular Basis of Disease*; 1866; 1-8.
- Myers, A. K., Grannemann, B. D., Lingvay, I. & Trivedi, M. H. (2013). Brief Report: Depression and History of Suicide Attempts in Adults with New-Onset Type 2 Diabetes. *Psychoneuroendocrinology*; 38; 2810–2814.
- Qiao, J., Wang, J., Wang, H., Zhang, Y., Zhu, S., Adilijiang, A., Guo, H., Zhang, R., Guo, W., Luo, G., Qiu, Y., Xu, H., Kong, J., Huang, Q. & Li, X. M. (2016). Regulation of Astrocyte Pathology by Fluoxetine Prevents the Deterioration of Alzheimer Phenotypes in an APP/PS1 Mouse Model. *Glia*; 64; 240–254.
- Qiu, Z. K., He, J. L., Liu, X., Zhang, G. H., Zeng, J., Nie, H., Shen, Y. G. & Chen, J. S. (2016). The Antidepressant-Like Activity of AC-5216, a Ligand for 18KDa Translocator Protein (TSPO), in an Animal Model of Diabetes Mellitus. *Scientific Reports*; 6; 1–13.
- Saravia, F. E., Revsin, Y., Gonzalez Deniselle, M. C., Gonzalez, S. L., Roig, P., Lima, A., Homodelarche, F. & De Nicola, A. F. (2002). Increased Astrocyte Reactivity in the Hippocampus of Murine Models of Type 1 Diabetes: the Nonobese Diabetic (NOD) and Streptozotocin-Treated Mice. *Brain Research*; 957; 345–353.
- Sartorius, N. (2018). Depression and Diabetes, Translational Research. *Dialogues in Clinical Neuroscience*; 20; 47–52.
- Seo, J. H. (2018). Treadmill Exercise Alleviates Stress-Induced Anxiety-Like Behaviors in Rats. *Journal of Exercise Rehabilitation*; 14; 724–730.
- Silva, A. I., Holanda, V. A. D., Azevedo Neto, J. G., Silva Junior, E. D., Soares-Rachetti, V. P., Calo, G., Ruzza, C. & Gavioli, E. C. (2020). Blockade of NOP Receptor Modulates Anxiety-Related Behaviors in Mice Exposed to Inescapable Stress. *Psychopharmacology*; 237; 1633–1642.
- Takeuchi, T., Owa, T., Nishino, T. & Kamei, C. (2010). Assessing Anxiolytic-Like Effects of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors and Serotonin-Noradrenaline Reuptake Inhibitors using the Elevated Plus Maze in Mice. *Methods and Finding in Experimental and Clinical Pharmacology*; 32; 113–121.
- Thorré, K., Chaouloff, F., Sarre, S., Meeusen, R., Ebinger, G. & Michotte, Y. (1997). Differential Effects of Restraint Stress on Hippocampal 5-HT Metabolism and Extracellular Levels of 5-HT in Streptozotocin-Diabetic Rats. *Brain Research*; 772; 209–216.
- Tucker, L. B. & McCabe, J. T. (2017). Behavior of Male and Female C57Bl/6J Mice is More Consistent with Repeated Trials in the Elevated Zero Maze than in the Elevated Plus Maze. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*; 11; 1–8.
- Walia, V., Garg, C. & Garg, M. (2019). NO-sGC-cGMP Signaling Influence the Anxiolytic Like Effect of Lithium in Mice in Light and Dark Box and Elevated Plus Maze. *Brain Research*; 1704; 114–126.
- Yuan, P., Zhang, J., Li, L. & Song, Z. (2019). Fluoxetine Attenuated Anxiety-Like Behaviors in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice by Mitigating the Inflammation. *Mediators of Inflammation*; 2019; 1-8.
- Zhang, K., Lu, J. & Yao, L. (2020). Involvement of the Dopamine D1 Receptor System in the Anxiolytic Effect of Cedrol in the Elevated Plus Maze and Light–Dark Box Tests. *Journal of Pharmacological Sciences*; 142; 26–33.

## Analisis Faktor-Faktor Klinik yang Mempengaruhi Kualitas Hidup Pasien Katarak di Rumah Sakit Dr. YAP, Yogyakarta

### *Analysis of Influencing Clinical Factors on Quality of Life of Patients with Cataract at Dr. YAP Hospital*

Rizky Hidayaturahmah<sup>1\*</sup>, Tri Murti Andayani<sup>2</sup>, Susi Ari Kristina<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Magister Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Farmasetika, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

\*Corresponding author: rizky.hidayaturahmah@mail.ugm.ac.id

Submitted: 12 August 2020

Accepted: 22 September 2021

Published: 30 November 2021

#### **Abstract**

**Background:** A cataract is an opacification condition of the lens of the eye. These conditions cause a decrease in patients' quality of life. The reduction in the quality of life of cataract patients is caused by sociodemographic characteristics (age, education, artistry, income, sex) and the presence of clinical factors (bilateral of cataracts, duration of cataracts, eye vision and comorbid). **Objective:** To analyze clinical factors that affect cataract patients' quality of life at Dr YAP Hospital. **Methods:** The research design was observational analytic with a "Cross-Sectional" design. The instrument used to measure life quality is the Indonesian version of the Short Form-6 Dimension (SF-6D). The sample was 464 cataracts patients at the Yogyakarta Dr.YAP Hospital who examined in June 2019-January 2020. The data collected was performed a statistical test using the Mann-Whitney U test and the Kruskal-Wallis H test to see the significance of the difference between the research variables and utility values. **Results:** 464 cataract respondents with an average age of 63 years, with an average utility value of 0.759. The domain with many health problems from the SF-6D questionnaire was pain (76.1%), followed by mental health (73.3%) and physical function (64.0%). Statistical test results showed that the p-value of quality of life in the eye clinic factors that experienced cataracts (0,000), eye vision (0,000) and comorbidity (0.031) showed a significant difference. **Conclusion:** Factors that affect the life quality of cataract patients are comorbid, bilateral cataracts and visual acuity.

**Keywords:** cataract, quality of life, clinical factors

#### **Abstrak**

**Pendahuluan:** Katarak merupakan keadaan dimana lensa mata menjadi keruh. Kondisi tersebut menyebabkan terjadinya penurunan akan kualitas hidup pasien, Penurunan kualitas hidup pasien katarak tidak hanya disebabkan oleh faktor sosiodemografi (usia, pendidikan, pekerjaan, penghasilan, jenis kelamin) tetapi juga adanya faktor klinik (mata yang mengalami katarak, lama terjadinya katarak, visus mata dan adanya komobid diabetes mellitus). **Tujuan:** Untuk menganalisis faktor-faktor klinik yang mempengaruhi kualitas hidup pasien katarak di Rumah Sakit Dr.YAP Yogyakarta. **Metode:** Desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah observasional analitik dengan rancangan *Cross Sectional*. Instrumen yang digunakan adalah *Short Form-6 Dimension* (SF-6D) versi Indonesia. Sampel penelitian adalah 464 pasien katarak di Rumah Sakit Dr. YAP Yogyakarta yang melakukan kontrol pada bulan Juni 2019–Januari 2020. Data kemudian dianalisa statistik menggunakan uji *Mann-Whitney* dan uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara variabel penelitian dan nilai utilitas. **Hasil:** Hasil penelitian yang dilakukan terhadap 464 responden dengan rata-rata usia 63 tahun dengan rata-rata nilai utilitas adalah 0,759. Domain yang banyak terdapat masalah kesehatan dari kuesioner SF-6D adalah domain rasa sakit (76,1%), dilanjutkan dengan domain kesehatan mental (73,3%) dan domain fungsi fisik (64,0). Hasil uji statistik didapatkan bahwa nilai *p-value* kualitas hidup pada faktor klinik mata yang mengalami katarak

(0,000), visus mata (0,000) dan komorbid (0,031) menunjukkan perbedaan yang signifikan, sedangkan untuk faktor lama katarak tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan (0,600). **Kesimpulan:** Faktor klinik yang mempengaruhi kualitas hidup pasien katarak adalah adanya komorbid, mata yang mengalami katarak dan visus mata.

**Kata kunci:** katarak, kualitas hidup, faktor klinik

## PENDAHULUAN

Penyebab kebutaan terbesar yang ada di Indonesia adalah katarak. Katarak merupakan gangguan penglihatan yang ditandai dengan hilangnya kejernihan atau terjadinya kekeruhan pada lensa mata. Hilangnya kejernihan pada lensa matar disebabkan oleh adanya penambahan volume cairan pada lensa mata (hidrasi) atau karena terjadinya denaturasi protein yang terdapat pada lensa mata atau dapat terjadi karena kedua hal tersebut (Ilyas, 2014). Beberapa penelitian sebelumnya menyatakan bahwa faktor usia, riwayat penyakit seperti diabetes melitus, kebiasaan merokok dan konsumsi alkohol merupakan faktor yang dapat menyebabkan terjadinya katarak (Awopi & Wahyuni, 2016; Laila dkk., 2017).

Terjadinya katarak akan mempengaruhi kualitas hidup pasien katarak. Penurunan kualitas hidup pasien katarak ditandai dengan berkurangnya kemampuan seseorang dalam mengerjakan atau menyelesaikan sesuatu atau terbatasnya aktivitas yang biasa dilakukan sehari-hari (Fadhilah dkk., 2019). Selain itu, karena mayoritas pasien katarak adalah pasien lanjut usia, gangguan penglihatan tersebut merupakan faktor yang menyebabkan semakin tingginya resiko terjatuh dan fraktur (Lamoureux dkk., 2011).

Indonesia merupakan negara dengan angka kejadian katarak tertinggi di Asia Tenggara. Hal tersebut menjadikan katarak sebagai salah satu masalah utama kesehatan pada masyarakat Indonesia. Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan bahwa adanya gangguan penglihatan dapat menyebabkan penurunan dari status kualitas hidup pasien, Hal tersebut dikarenakan adanya dampak negatif yang ditimbulkan dari katarak antara lain gangguan pada aktivitas sehari-hari yang memerlukan fungsi penglihatan. Aktivitas yang dimaksudkan antara lain mobilitas, kegiatan sosial dalam masyarakat dan aktifitas lainnya yang berpengaruh pada kualitas hidup. Adanya dampak negatif tersebut mengakibatkan terjadinya penurunan kemampuan individu untuk melakukan kegiatan seperti bekerja, mengisi waktu senggang atau aktivitas yang biasa dilakukan sehari-hari. Selain dampak fisik, pada penelitian sebelumnya juga menyatakan bahwa adanya

katarak sering menimbulkan dampak lain seperti pasien akan terisolasi pada lingkungan sosial, *denial* dan *shock*, depresi dan ketergantungan pada orang lain. Selain hal tersebut, karena mayoritas individu yang mengalami katarak merupakan lansia maka adanya katarak akan menyebabkan peningkatan resiko jatuh, fraktur femur, kesalahan medikasi dan penurunan pada status gizi pada lansia tersebut (Lamoureux dkk., 2011).

Sebagai salah satu gangguan penglihatan, katarak memiliki implikasi secara multidimensi, antarlain dampak yang berkaitan dengan fisik (penurunan visus mata yang berpengaruh pada tajam penglihatan), dampak mental atau psikologis (emosi yang tidak stabil, depresi, kepuasan dalam menjalani hidup dan rasa bahagia), dampak secara sosial (keterbatasan pada kegiatan sosial dan hubungan interpersonal di masyarakat) dan yang terakhir adalah dampak fungsional (hambatan pada mobilitas, aktivitas sehari-hari dan kemampuan dalam merawat diri) (Stelmack dkk., 2013).

Gangguan yang sering dialami pada pasien dengan diagnosis katarak adalah penglihatan jarak jauh. Gangguan tersebut menyebabkan pasien dengan diagnosis katarak akan memiliki kesulitan mobilitas yang berkaitan dengan kemandirian (menghindari rintangan di jalan, mengenali orang, membaca rambu-rambu lalu lintas). Selain gangguan penglihatan jarak jauh, katarak juga dapat mengganggu pada penglihatan jarak dekat, seperti kesulitan dalam melakukan aktifitas seperti menjahit, membaca, mengenakan pakaian (Stelmack dkk., 2013).

Dari pemaparan diatas, secara tidak langsung adanya katarak sebagai salah satu gangguan penglihatan dapat meningkatkan resiko jatuh dan fraktur sehingga menjadikan individu tersebut terlalu berhati-hati karena rasa takut akan terjatuh. Selain hal tersebut adanya katarak juga dapat menyebabkan masalah penglihatan pada daerah yang gelap (Stelmack dkk., 2013).

Menurut *International Classification of Functioning*, faktor klinik pada gangguan penglihatan yang dapat mempengaruhi kualitas hidup individu adalah visus atau tajam penglihatan (Asroruddin, 2013). Pada penelitian yang dilakukan oleh Laitinen (2009)

menyebutkan bahwa adanya hubungan penurunan visus mata dengan aktivitas rutin seseorang. Data pada penelitian tersebut menyebutkan bahwa sekitar 80% individu dengan visus mata 6/24 atau lebih akan mengalami setidaknya satu keterbatasan dalam melakukan aktivitas harian dibandingkan dengan individu yang memiliki visus lebih dari 6/7,5. Selain visus, *bilateralis cataract* atau katarak bilateral juga berdampak pada gangguan mobilitas individu. Dimana pada pasien dengan katarak bilateral (katarak yang terjadi pada kedua mata) resiko jatuh lebih tinggi dibandingkan dengan pasien dengan katarak unilateral (katarak pada salah satu mata) (Cahill dkk., 2015). Pada beberapa penelitian juga menyebutkan bahwa terdapat keterkaitan antara penurunan status kualitas responden katarak dengan adanya penyakit penyerta seperti diabetes mellitus (Harun dkk., 2020).

Penelitian ini bertujuan untuk melihat faktor-faktor klinik apa saja yang dapat mempengaruhi kualitas hidup pasien katarak yang ada di Rumah Sakit Mata Dr. YAP Yogyakarta.

## METODE

Penelitian ini menggunakan rancangan *cross sectional* atau potong lintang. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah menggunakan metode *convenience sample* yang dilakukan pada 464 responden dengan diagnosa katarak di Rumah Sakit Mata Dr. YAP Yogyakarta. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah pasien dengan diagnosa katarak yang melakukan pemeriksaan atau kontrol di Rumah Sakit Mata Dr. YAP Yogyakarta pada periode Juli 2019 sampai Januari 2020, pasien dengan usia diatas 40 tahun dan pasien yang memiliki catatan medis yang lengkap. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah pasien-pasien dengan riwayat penyakit berat seperti gagal ginjal kronik dan kanker. Instrumen atau kuesioner untuk menilai kualitas hidup pasien katarak yang digunakan pada penelitian ini adalah kuesioner *Short Form-6 Dimension* (SF-6D). Kuesioner ini merupakan kuesioner yang dikembangkan oleh tim dari Universitas Sheffield. Data jawaban pada setiap pertanyaan yang diperoleh nantinya dikumpulkan dan menjadi nilai *utility* dengan *utility algorithm* (Ferreira dkk., 2008). Dikarenakan belum adanya *utility algorithm* versi Indonesia, maka value set atau *utility algorithm* yang digunakan adalah versi original (*United Kingdom*). Kuesioner SF-6D versi Indonesia digunakan karena memiliki dimensi dan tingkatan atau level yang lebih luas sehingga memiliki kemampuan untuk membedakan level kesehatan lebih baik dibandingkan

dengan kuesioner *European Quality of Life-5 Dimension* atau EQ-5D dan nilai *ceiling effect* yang lebih rendah dibandingkan dengan kuesioner EQ-5D. Pada penelitian sebelumnya juga menyatakan bahwa kuesioner SF-6D lebih sensitif dibandingkan kuesioner EQ-5D untuk mengukur kualitas hidup pasien gangguan penglihatan glaukoma (Bozzani dkk., 2012). Hal tersebut juga didukung oleh penelitian sebelumnya dinyatakan bahwa instrumen EQ-5D tidak sensitif untuk membedakan kualitas hidup pasien berdasarkan nilai visus mata (*visual acuity*) (Visser dkk., 2017).

Setelah diperoleh data terkait nilai utilitas, analisis statistik selanjutnya yang dilakukan untuk melihat ada tidaknya faktor klinik responden yang berpengaruh pada kualitas hidup pasien. Faktor klinik yang dimaksud adalah mata yang mengalami katarak atau *bilateralis cataract*, lama katarak, kategori visus mata dan ada atau tidaknya komorbid diabetes mellitus. Uji statistik yang dilakukan untuk melihat ada atau tidaknya faktor klinik yang berpengaruh terhadap kualitas hidup adalah uji *Mann-Whitney U* dan uji *Kruskal-Wallis H*. Uji *Mann-Whitney U* digunakan untuk variabel dikomotos (variabel komorbid diabetes mellitus) dan uji *Kruskal Wallis H* digunakan untuk variabel *polykromus* (variabel mata yang mengalami gangguan, kisaran lama gangguan mata dan kategori visus mata). Interpretasi data statistik, apabila diketahui bahwa nilai *p-value* > 0,05 maka tidak ada hubungan antara faktor klinik dan kualitas hidup pasien katarak. Sedangkan, jika diketahui bahwa nilai *p-value* < 0,05 maka ada hubungan antara faktor klinik dan kualitas hidup pasien katarak.

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari komisi etik Rumah Sakit Dr. YAP Yogyakarta dengan nomor 16/KEH/EC/VI/2019.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Responden pada penelitian yang masuk dalam kriteria inklusi adalah sebanyak 464 responden dengan diagnose katarak senilis yang melakukan pemeriksaan di Rumah Sakit Mata Dr. YAP Yogyakarta.

### Gambaran karakteristik responden katarak di Rumah Sakit Mata Dr. YAP Yogyakarta.

Tabel 1 menunjukkan karakteristik responden dengan diagnose katarak di Rumah Sakit Dr. YAP Yogyakarta. Dari tabel tersebut terlihat bahwa rata-rata usia pada penelitian ini adalah 63 tahun dengan usia paling banyak mengalami katarak adalah usia lebih dari 65 tahun, yaitu sebanyak 215 responden atau 46,3%. Rata-rata tersebut berbeda dengan penelitian yang pernah dilakukan di negara subtropis seperti Cina,

dimana rata-rata usia pasien katarak pada masyarakat Cina adalah 79 tahun (Zhu dkk., 2015). Hal tersebut dikarenakan resiko terjadinya katarak pada responden Indonesia adalah 15 tahun lebih awal dibandingkan dengan masyarakat pada negara-negara subtropis (seperti Cina) (Kementrian Kesehatan RI, 2013).

Pada penelitian ini, proporsi responden berjenis kelamin perempuan (51,9%) lebih besar dibandingkan dengan responden laki-laki (48,1%). Hasil tersebut sama dengan beberapa penelitian sebelumnya, hal yang menyebabkan antara lain karena adanya menopause pada wanita (Awopi & Wahyuni, 2016; Laila dkk., 2017; Tamansa dkk., 2016). Selain jenis kelamin, faktor

sosiodemografi yang berpengaruh pada katarak adalah pekerjaan. Pada penelitian ini responden yang masih bekerja adalah 51,3%. Mayoritas pekerjaan pada penelitian ini adalah petani dan buruh. Beberapa penelitian menyatakan bahwa responden yang memiliki pekerjaan diluar ruangan (petani dan buruh) memiliki potensi terjadinya katarak lebih tinggi daripada responden yang bekerja di dalam ruangan. Hal tersebut dikarenakan pada responden dengan pekerjaan diluar ruangan akan sering terpapar sinar matahari (UV) langsung. Paparan sinar UV kronik dilaporkan menjadi salah satu faktor resiko terjadinya katarak (Hamidi & Royadi, 2017; Yunaningsih & Ibrahim, 2017).

**Tabel 1.** Karakteristik pasien katarak di Rumah Sakit Mata Dr. YAP Yogyakarta

| Variabel                            | Jumlah Responden    | Persentase (%) |
|-------------------------------------|---------------------|----------------|
| <b>Jenis Kelamin</b>                |                     |                |
| • laki-laki                         | 223                 | 48,1           |
| • Perempuan                         | 241                 | 51,9           |
| <b>Rerata Usia</b>                  | <b>63,98 ±10,64</b> |                |
| <b>Kelompok Usia</b>                |                     |                |
| • 36 - 45 tahun                     | 18                  | 3,9            |
| • 46 - 55 tahun                     | 112                 | 24,1           |
| • 56 - 65 tahun                     | 119                 | 25,6           |
| • > 65 tahun                        | 215                 | 46,3           |
| <b>Pekerjaan</b>                    |                     |                |
| • Bekerja                           | 238                 | 51,3           |
| • Tidak Bekerja                     | 226                 | 4,7            |
| <b>Riwayat Merokok</b>              |                     |                |
| • Merokok                           | 116                 | 25,0           |
| • Tidak Merokok                     | 261                 | 56,3           |
| • Berhenti Merokok                  | 87                  | 18,8           |
| <b>Mata yang mengalami gangguan</b> |                     |                |
| • Mata Kanan (OD)                   | 71                  | 15,3           |
| • Mata Kiri (OS)                    | 48                  | 10,3           |
| • Mata Kanan Kiri (ODS)             | 364                 | 74,4           |
| <b>Kisaran Lama Gangguan Mata</b>   |                     |                |
| • < 1 tahun                         | 131                 | 28,2           |
| • 1 - 5 tahun                       | 215                 | 46,3           |
| • > 5 tahun                         | 118                 | 25,4           |
| <b>Kategori Visus Mata</b>          |                     |                |
| • Gangguan Ringan                   | 171                 | 36,9           |
| • Gangguan Sedang                   | 82                  | 17,7           |
| • Gangguan Berat                    | 96                  | 20,7           |
| • Gangguan Sangat Berat             | 66                  | 14,2           |
| • Hampir Buta                       | 49                  | 10,6           |
| <b>Komorbid Diabetes Mellitus</b>   |                     |                |
| • Ada komorbid DM                   | 240                 | 51,7           |
| • Tidak ada komorbid DM             | 224                 | 48,3           |

Kebiasaan merokok menjadi salah satu faktor yang dapat menyebabkan katarak dan perburukan kondisi katarak. Pada penelitian ini pasien merokok memiliki proporsi 43,8%. Angka kejadian katarak pada pasien merokok dua kali lebih besar dibandingkan dengan

pasien yang tidak merokok. Hal tersebut dikarenakan pada pasien perokok ditemukan kadar antioksidan yang rendah, dimana fungsi dari antioksidan tersebut adalah untuk menetralkan senyawa radikal di dalam tubuh

karena asap dari rokok yang dihisap (Harun dkk., 2020; Tana & Mihardja, 2016; Yunaningsih & Ibrahim, 2017).

Mayoritas responden pada penelitian ini memiliki komorbid diabetes mellitus yaitu 51,7%. Adanya komorbid diabetes mellitus menjadi salah satu faktor pencetus terjadinya katarak dan perburukan kondisi katarak (Harun dkk., 2020; Syawal & Awaluddin, 2019).

Katarak pada umumnya terjadi pada kedua mata. Katarak unilateral atau sebelah mata terjadi karena faktor progresivitas penyakit, dimana mata sebelah lebih cepat mengalami perburukan dibandingkan mata yang lainnya. Lama gangguan penglihatan katarak paling banyak adalah pada kelompok 1 sampai dengan 5 tahun yaitu sebanyak 215 responden. Banyak dari responden yang mengalami kebutaan cukup lama (lebih dari 1 tahun) pada penelitian ini disebabkan oleh beberapa faktor salah satunya adalah ketidaktahuan masyarakat akan bahayanya katarak apabila tidak segera ditangani, selain itu masalah biaya terapi juga menjadi kendala pasien untuk melakukan terapi katarak. Pada penelitian sebelumnya, disebutkan pula bahwa karena perjalanan penyakit katarak terjadi sangat lambat dan umumnya terjadi pada lansia, maka banyak dari responden yang beranggapan bahwa katarak adalah penyakit yang tidak berbahaya sehingga masyarakat cenderung tidak terlalu peduli akan penyakit katarak tersebut (Asroruddin, 2013). Visus mata atau ketajaman mata pada penelitian ini dibagi menjadi lima kelompok. Paling banyak responden pada penelitian ini memiliki visus mata yang masuk dalam kategori gangguan ringan.

**Quality of life pasien katarak di Rumah Sakit Mata Dr. YAP Yogyakarta.**

Katarak menjadi salah satu penyakit yang dilaporkan dapat menyebabkan penurunan status kualitas hidup seseorang. Adanya masalah pada gangguan penglihatan berpengaruh pada terhambatnya aktivitas sehari-hari yang biasa dilakukan. Selain itu adanya gangguan penglihatan juga dapat meningkatkan resiko jatuh dan fraktur femur pada lansia (Lamoureux dkk., 2011).

Data terkait kualitas hidup pasien katarak yang diukur dengan instrumen SF-6D versi Indonesia di Rumah Sakit Dr.YAP Yogyakarta dapat dilihat pada Tabel 2.

Pada penelitian ini hasil kualitas hidup yang di dapatkan sedikit berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa kualitas hidup pasien katarak adalah 0,72 (Groessl dkk., 2013). Hal tersebut dikarenakan utility algorithm atau value set yang

digunakan pada penelitian ini masih menggunakan value set versi original.

**Tabel 2.** Kualitas hidup pasien katarak di Rumah Sakit Mata Dr. YAP Yogyakarta

| Kualitas Hidup (SF-6D) |       |
|------------------------|-------|
| Rata-rata              | 0,759 |
| Standar deviasi        | 0,146 |
| Minimum                | 0,474 |
| Maksimum               | 1,000 |

Domain rasa sakit merupakan domain yang sering banyak terdapat masalah kesehatan, hasil serupa juga terdapat pada penelitian sebelumnya meskipun penelitian sebelumnya menggunakan responden masyarakat umum (Haris, 2018). Penelitian terkait pemeriksaan kualitas hidup pasien katarak dengan instrumen SF-6D masih sangat jarang, sehingga tidak ada rujukan terkait hasil yang bisa digunakan untuk membandingkan hasil penelitian ini. Dari analisa data hanya 23,9% responden yang menyatakan tidak mengalami rasa sakit sementara untuk level lainnya menyatakan bahwa merasakan rasa sakit atau yang beragam yang mengganggu pekerjaan sehari-hari baik di dalam rumah ataupun di luar rumah. Ditinjau berdasarkan jawaban responden terhadap rasa sakit karena gangguan mata yang diderita, sebagian besar responden (34,7%) menjawab berada di level 3 yang mana responden merasa adanya rasa sakit dan sedikit mengganggu aktivitas baik di dalam maupun dirumah. Peneliti mencoba mewawancarai lebih dalam terkait rasa sakit yang dimaksud adalah lebih merujuk pada rasa tidak nyaman karena kondisi katarak dan beberapa responden menyatakan bahwa semakin hari mata semakin sensitif terhadap cahaya sehingga sedikit mengganggu aktifitas baik di dalam maupun di luar rumah. Domain kedua yang banyak mendapatkan masalah kesehatan adalah domain kesehatan mental (73,3%), dilanjutkan dengan domain fungsi fisik (64,0%), domain keterbatasan peran (57,3%), domain fungsi sosial (53,6%) dan vitalitas (37,9%). Hasil tersebut sejalan dengan penelitian yang pernah dilakukan oleh Haris (2018) walaupun responden yang digunakan adalah responden umum, hal tersebut dikarenakan penelitian terkait kualitas hidup menggunakan SF-6D pada pasien katarak maupun gangguan penglihatan lainnya masih sangat jarang.

Gambaran terkait domain-domain pada kuesioner SF-6D versi Indonesia pada pasien katarak dapat dilihat pada Tabel 3.



**Tabel 3.** Deskripsi permasalahan per item domain dari kuesioner SF-6D versi Indonesia

| Domain             | Gangguan Permasalahan HRQoL (% total) |
|--------------------|---------------------------------------|
| Rasa Sakit         | 76,1                                  |
| Kesehatan Mental   | 73,3                                  |
| Fungsi Fisik       | 64,0                                  |
| Keterbatasan Peran | 57,3                                  |
| Fungsi Sosial      | 53,6                                  |
| Vitalitas          | 37,9                                  |

Penurunan kualitas hidup pasien karatak dapat dipengaruhi 2 faktor, faktor klinik dan faktor demografi.

**Table 4.** Perbedaan kualitas hidup pasien katarak berdasarkan faktor klinik

| Variabel Faktor Klinik       | Rata-rata nilai kualitas hidup | SD     | <i>p-value</i> |
|------------------------------|--------------------------------|--------|----------------|
| Mata yang mengalami gangguan |                                |        |                |
| • Mata Kanan (OD)            | 0,8643                         | 0,1147 | 0,000          |
| • Mata Kiri (OS)             | 0,8484                         | 0,1342 |                |
| • Mata Kanan Kiri (ODS)      | 0,7245                         | 0,1376 |                |
| Lama gangguan mata           |                                |        |                |
| • < 1 tahun                  | 0,7681                         | 0,1340 | 0,600          |
| • 1-5 tahun                  | 0,7510                         | 0,1416 |                |
| • > 5 tahun                  | 0,7635                         | 0,1663 |                |
| Kategori visus mata          |                                |        |                |
| • Gangguan Ringan            | 0,8851                         | 0,1009 | 0,000          |
| • Gangguan Sedang            | 0,7991                         | 0,1472 |                |
| • Gangguan Berat             | 0,6680                         | 0,0370 |                |
| • Gangguan Sangat Berat      | 0,6369                         | 0,0444 |                |
| • Hampir Buta                | 0,5910                         | 0,0427 |                |
| Komorbid Diabetes Mellitus   |                                |        |                |
| • Ada komorbid DM            | 0,7487                         | 0,1498 | 0,031          |
| • Tidak ada komorbid DM      | 0,7707                         | 0,1416 |                |

**Hubungan mata yang mengalami katarak dengan kualitas hidup pasien katarak**

Katarak senil merupakan salah satu jenis katarak yang biasa terjadi pada pasien diatas usia 40 tahun (Abib dkk., 2018). Jenis katarak ini biasa terjadi pada kedua mata atau bilateral maupun unilateral (terjadi pada salah satu mata (Astari, 2018). Hal tersebut dapat terjadi karena terkadang progresivitas penyakit antara mata kanan dan mata kiri yang berbeda, sehingga tidak menutup kemungkinan katarak dapat terjadi hanya pada salah satu mata (Zhu dkk., 2015).

Menurut data Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2008), di Indonesia prevalensi terjadinya gangguan penglihatan (katarak) bilateral adalah 5,8% dan angka kebutaan bilateral disebabkan katarak adalah 2,2%. Pada penelitian ini, data dari uji statistik menunjukkan bahwa mata yang mengalami katarak (kedua mata/*bilateralis* atau salah satu mata/*unilateralis*)

faktor demografi yang dilaporkan berdampak pada penurunan kualitas hidup pasien katarak adalah usia, pekerjaan, penghasilan dan pendidikan (Asroruddin, 2013; Lisnawati, 2020). Sedangkan faktor klinik yang mempengaruhi kualitas hidup pasien dengan gangguan penglihatan antara lain mata yang mengalami gangguan (bilateral atau unilateral), lama gangguan mata, kategori visus mata dan adanya komorbid diabetes (Asroruddin, 2013). Tabel 4 pada penelitian ini menunjukkan perbedaan kualitas hidup pasien katarak berdasarkan faktor-faktor klinik.

memberikan perbedaan yang signifikan terhadap kualitas hidup pasien (*p-value* 0,000). Dimana responden dengan katarak bilateral memiliki kualitas hidup lebih rendah (0,7245) dibandingkn pasien dengan katarak unilateral atau hanya pada salah satu mata (0,8648 (kanan) dan 0,8484 (kiri)). Hasil tersebut sama dengan penelitian terdahulu yang pernah dilakukan walaupun nilai dari kualitas hidup yang berbeda dikarenakan kuesioner yang digunakan tidak sama. Pada penelitian terdahulu terkait pengukuran kualitas hidup pasien katarak menggunakan kuesioner *Visual Function Questionnair-25* (VFQ-25) juga menyebutkan bahwa rata-rata nilai kualitas hidup pada katarak bilateral lebih rendah (49,71) dibandingkan rata-rata pada pasien unilateral (64,61).

Perbedaan tersebut dikarenakan pada responden dengan katarak bilateral akan memiliki keterbatasan yang sangat tinggi terutama pada aspek penglihatan jarak jauh. Aspek ini berdampak ada kesulitan pasien

dalam pembelajaran seperti memahami komunikasi nonverbal dan mobilitas. Selain itu, resiko jatuh pada pasien dengan katarak bilateral adalah 4 kali lebih tinggi dibandingkan pada katarak unilateral (Cahill dkk., 2015; Fadhilah dkk., 2018). Selain itu, dilaporkan pula bahwa responden yang hanya mengalami katarak pada sebelah mata masih dapat melakukan aktivitas sehari-hari walaupun ada sedikit keterbatasan atau hambatan. Hambatan yang biasa dirasakan adalah rasa kurang nyaman pada mata sehingga durasi untuk menjalankan aktifitas atau pekerjaan sedikit terganggu (Alimaw dkk., 2019).

#### **Hubungan lama gangguan mata katarak dengan kualitas hidup pasien katarak**

Pada penelitian ini, kisaran lama terjadinya katarak dibagi atas tiga kelompok kisaran waktu, yaitu dibawah 1 tahun, 1 - 5 tahun dan diatas 5 tahun. Pada penelitian ini pasien katarak dengan kisaran waktu 1 - 5 tahun memiliki proporsi paling besar, yaitu 46,3%. Hal tersebut dapat terjadi karena berbagai faktor, seperti tingkat pengetahuan responden yang rendah akan penyakit katarak, sosialisasi dari pihak kesehatan terkait gangguan penglihatan katarak yang belum optimal, akses fasilitas kesehatan yang sangat jauh. Selain itu, karena katarak merupakan salah satu jenis penyakit degeneratif, banyak sekali responden menganggap bahwa penyakit tersebut tidak terlalu berbahaya (Laitinen, 2009).

Berdasarkan lama terjadinya katarak, nilai kualitas hidup tidak memberikan perbedaan yang signifikan antar kelompok ( $p$ -value 0,600). Hasil yang didapatkan pada penelitian ini sama dengan penelitian terdahulu, dimana pada variabel lama katarak dengan kualitas hidup menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan antara responden dengan katarak dibawah satu tahun, 1 sampai 5 tahun dan diatas lima tahun ( $p$ -value 0,71) (Asroruddin, 2013). Hal tersebut dapat diartikan bahwa semakin lama seseorang mengalami gangguan pada penglihatan, maka kualitas hidup seseorang akan cenderung semakin baik. Pada hal tersebut terjadi mekanisme adaptasi, dimana seseorang yang mengalami gangguan mata (katarak) pada awalnya akan mengganggu aktifitas kehidupan, dan seseorang cenderung akan merasa sedih/putus asa yang terlihat dari nilai kualitas hidup yang mengalami penurunan lumayan besar. Akan tetapi seiring waktu berjalan, seorang individu akan mampu untuk beradaptasi akan kondisi yang dialaminya (Asroruddin, 2013).

#### **Hubungan visus mata dengan kualitas hidup pasien katarak**

Visus atau ketajaman mata memiliki peran yang sangat vital sebagai faktor independen yang kuat terhadap fungsi fisik responden, terutama responden dengan usia diatas 55 tahun. Selain itu penurunan visus mata menyebabkan terjadinya peningkatan adanya gangguan atau keterbatasan dalam melakukan aktivitas sehari-hari (Laitinen, 2009). Adanya penurunan visus mata pada individu katarak berbanding lurus dengan penurunan kualitas hidup pada individu tersebut (Lamoureux dkk., 2011)

Pada penelitian ini, data yang dihasilkan dari uji statistik hubungan antara kualitas hidup dengan visus mata menyatakan bahwa nilai  $p$ -value yang didapat adalah 0,000 ( $p < 0,05$ ). hasil tersebut sama dengan penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya, dimana nilai  $p$ -value yang diperoleh pada penelitian tersebut adalah 0,007 (Asroruddin, 2013). Hal tersebut dapat diartikan bahwa penurunan nilai visus atau ketajaman mata berimbas pula pada penurunan status kualitas hidup seseorang. (Lamoureux dkk., 2011). Responden dengan gangguan penglihatan berat akan mengalami penurunan status kualitas hidup hingga 60 - 70%, sedangkan untuk pasien buta penurunan yang terjadi mencapai 50% (Asroruddin, 2013).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Laitinen (2009) dan Lamoureux (2011) menyatakan bahwa penurunan visus atau ketajaman mata pada pasien katarak menjadi faktor independen yang sangat kuat yang berpengaruh pada fungsi fisik seseorang dan penurunan visus berbanding lurus dengan penurunan status kualitas hidup individu tersebut.

#### **Hubungan adanya diabetes mellitus dengan kualitas hidup pasien katarak**

Selain tajam penglihatan atau visus mata, komorbid atau penyakit penyerta juga menjadi salah satu faktor klinik yang dapat menurunkan kualitas hidup bagi pasien katarak (Laitinen, 2009; Lamoureux dkk., 2011). Adanya komorbid diabetes mellitus akan memperburuk keadaan katarak yang diderita pasien. Hal tersebut dikarenakan pada pasien diabetes, terutama pasien dengan kadar gula darah tidak terkontrol akan terjadi peningkatan penumpukan senyawa sorbitol intraseluler. Penumpukan tersebut memicu terjadinya efek hiperosmotik, efek tersebut apabila terjadi pada lensa mata akan menyebabkan terbentuknya serat-serat pada lensa mata yang menyebabkan lensa menjadi keruh (Harun dkk., 2020; Syawal & Awaluddin, 2019).

Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan kualitas hidup yang signifikan ( $p$ -value 0,031) antara pasien katarak dengan diabetes dan pasien katarak tanpa penyakit diabetes, dimana kualitas hidup pada pasien katarak dengan adanya komorbid (diabetes mellitus) lebih rendah dibanding kualitas hidup pasien katarak tanpa adanya komorbid diabetes mellitus. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Asroruddin (2013) yang menyatakan bahwa adanya komorbid diabetes mellitus akan menurunkan status kualitas hidup pada pasien dengan diagnosa katarak.

Penelitian ini memiliki beberapa kelebihan dan keterbatasan. Salah satu kelebihan dari penelitian ini adalah adanya pengujian terkait *psychometric properties* yang dilakukan sebelumnya, pengujian tersebut dilakukan untuk melihat validitas dan reliabilitas dari kuesioner SF-6D versi Indonesia dalam mengukur status kualitas hidup pasien katarak. Uji validitas dan reliabilitas tersebut dilakukan dikarenakan penelitian terkait status kualitas hidup pasien katarak menggunakan kuesioner SF-6D versi Indonesia belum banyak dilakukan. Uji validitas yang dilakukan adalah uji *ceiling effect* dan uji validitas konstruk. Instrumen atau kuesioner yang baik adalah instrumen yang tidak memiliki *ceiling effect* ( $< 15\%$ ) (Vellante dkk., 2013). Hasil dari uji *ceiling effect* adalah 13,8%. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian yang pernah dilakukan oleh (Andayani dkk., 2020). Dari hasil uji *ceiling effect* dapat diketahui bahwa kuesioner SF-6D versi Indonesia sensitif untuk menilai status kualitas hidup pasien katarak berdasarkan tingkat gangguan visus mata. Uji selanjutnya yang dilakukan adalah uji validitas konstruk yang mencakup uji *convergen validity* dan uji *known group validity*. Hasil dari uji *convergen validity* pada domain dengan trait yang sama antara SF-6D versi Indonesia dan EQ-5D versi Indonesia (instrumen yang sering digunakan pada penelitian terkait gangguan mata di Indonesia) menunjukkan korelasi yang kuat hingga sangat kuat (0,637 - 0,814) dan uji *known group validity* menunjukkan bahwa kuesioner SF-6D versi Indonesia yang diujikan pada pasien katarak dapat membedakan responden berdasarkan usia, pendidikan, pekerjaan, riwayat merokok, mata yang mengalami gangguan, visus mata (VA atau *visual acuity*) dan riwayat penyakit/komorbid dilihat berdasarkan nilai signifikansi  $p < 0,05$ .

Selain uji validitas, dilakukan pula uji reliabilitas instrumen. Uji reliabilitas yang dilakukan adalah uji *internal consistency cronbach's alpha* dan *test-retest reliability*. Hasil nilai *cronbach's alpha reliability*

sebesar 0,878 dan test retest menunjukkan korelasi yang baik (0,492 - 0,908). Berdasarkan pengujian validitas dan reliabilitas yang dilakukan pada penelitian ini dapat dinyatakan bahwa kuesioner SF-6D versi Indonesia tersebut valid dan reliabel untuk digunakan pada pasien katarak. Selain masih jarangnyanya penggunaan kuesioner SF-6D versi Indonesia untuk mengukur status kualitas hidup pasien katarak, penelitian terkait pengaruh faktor klinik pasien dengan gangguan penglihatan katarak (terutama mata yang mengalami katarak (*bilateralis* atau *unilateralis*) dan visus mata (*visual acuity*) terhadap status kualitas hidup pasien katarak juga belum banyak dilakukan, sehingga diharapkan dengan adanya penelitian ini dapat menjadi informasi terkait hal tersebut.

Keterbatasan dari penelitian ini adalah pada penelitian ini *value set* untuk kuesioner SF-6D yang digunakan adalah *value set* original yaitu *value set* versi *United Kingdom* sehingga turut mempengaruhi hasil pengukuran kualitas hidup pada responden. Berdasarkan penelitian sebelumnya dinyatakan bahwa *value set* pada populasi Asia (Hong Kong) lebih tinggi dibandingkan dengan *value set* original (UK) (Kharroubi dkk., 2014). Berdasarkan keterbatasan tersebut, diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengembangan *value set* SF-6D versi Indonesia yang disesuaikan dengan responden atau populasi yang ada di Indonesia.

## KESIMPULAN

Faktor-faktor klinik yang berperan dalam penurunan status kualitas hidup pasien katarak antara lain mata yang mengalami katarak, penurunan visus mata dan adanya diabetes mellitus sebagai penyakit komorbid. Sedangkan untuk faktor lama terjadinya katarak tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, hal tersebut dikarenakan adanya perilaku adaptasi yang dilakukan oleh pasien katarak.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Rumah Sakit Mata Dr. YAP Yogyakarta yang telah memberikan izin kepada penulis untuk melakukan penelitian, semua responden yang bersedia mengikuti penelitian ini serta dosen pembimbing utama dan pendamping yang telah memberikan masukan dalam penulisan naskah publikasi ini.

## DAFTAR PUSTAKA

Abib, D. I., Koffi, B. P. E. F., François, D. G., Zana, D., Pascaline, K. M. M., Yves, O., Herman, K. K. F.,

- Harmand, K. N. & Virgile, K. K. (2018). Comparative Evaluation of Extra Capsular Extraction (ECE) with Suture and Small Incision Cataract Surgery (SICS) Manual without Suture in the University Hospital of Bouake (Ivory Coast). *Open Journal of Ophthalmology*; 8; 171–179.
- Alimaw, Y. A., Hussen, M. S., Tefera, T. K. & Yibekal, B. T. (2019). Knowledge about Cataract and Associated Factors Among Adults in Gondar Town, Northwest Ethiopia. *PloS One*; 14; 1-9.
- Andayani, T. M., Endarti, D., Kristina, S. A. & Rahmawati, A. (2020). Perbandingan EQ-5D-5L dan SF-6D untuk Mengukur Index Utility Kesehatan pada Populasi Umum di Yogyakarta. *Jurnal Manajemen dan Pelayanan Farmasi (Journal of Management and Pharmacy Practice)*; 10; 35-44.
- Asroruddin, M. (2013). Dampak Gangguan Penglihatan dan Penyakit Mata terhadap kualitas hidup terkait penglihatan (Vision-Related Quality of Life) pada Populasi Gangguan Penglihatan Berat dan Buta di Indonesia. *Skripsi*; Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Astari, P. (2018). Katarak: Klasi Kasi, Tatalaksana, dan Komplikasi Operasi. *Cermin Dunia Kedokteran*; 45; 748-753.
- Awopi, G. & Wahyuni, T. D. (2016). Analisis Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kejadian Katarak di Poliklinik Mata di Puskesmas Dau Kabupaten Malang. *Nursing News*; 1; 7-11.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar 2007. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Bozzani, F. M., Alavi, Y., Jofre-Bonet, M. & Kuper, H. (2012). A Comparison of the Sensitivity of EQ-5D, SF-6D and TTO Utility Values to Changes in Vision and Perceived Visual Function in Patients with Primary Open-Angle Glaucoma. *BMC Ophthalmology*; 12; 1-9.
- Cahill, M., Banks, A., Stinnett, S. & Toth, C. (2015). Vision-related Quality of Life in Patients with Bilateral Severe Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology*; 112; 152–158.
- Fadhilah, N., Noor, N. N., Stang & Hardianti, A. (2019). Hubungan Karakteristik Responden dengan Kualitas Hidup Penderita Katarak. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Maritim*; 2; 62-69.
- Ferreira, L. N., Ferreira, P. L., Pereira, L. N. & Brazier, J. (2008). An Application of the SF-6D to Create Health Values in Portuguese Working Age Adults. *Journal of Medical Economics*; 11; 215–233.
- Groessler, E. J., Liu, L., Sklar, M., Tally, S. R., Kaplan, R.M. & Ganiats, T. G. (2013). Measuring the Impact of Cataract Surgery on Generic and Vision-Specific Quality of Life. *Quality of Life Research*; 22; 1405–1414.
- Hamidi, M. N. S. & Royadi, A. (2017). Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Terjadinya Katarak Senilis pada Pasien di Poli Mata RSUD Bangkinang. *Jurnal Ners*; 1; 125-138.
- Haris, R. N. H. (2018). Pengukuran Kualitas Hidup pada Populasi Umum di Kota Yogyakarta menggunakan Instrumen Short Form-6 Dimension (SF-6D) Versi Indonesia. *Tesis*; Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Harun, H. M., Abdullah, Z. & Salmah, U. (2020). Pengaruh Diabetes, Hipertensi, Merokok dengan Kejadian Katarak di Balai Kesehatan Mata Makassar. *Jurnal Kesehatan Vokasional*; 5; 45-52.
- Ilyas, S. (2014). Ikhtisar Ilmu Penyakit Mata. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Kementerian Kesehatan RI. (2013). *Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS)*. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI.
- Kharroubi, S. A., Brazier, J. E. & McGhee, S. (2014). A Comparison of Hong Kong and United Kingdom SF-6D Health States Valuations Using a Nonparametric Bayesian Method. *Value in Health*; 17; 397–405.
- Laila, A., Raupong, I. & Saimin, J. (2017). Analisis Faktor-Faktor Risiko Kejadian Katarak di Daerah Pesisir Kendari. *Medula*; 4; 377-387.
- Laitinen, A. (2009). Reduced Visual Acuity and Impact on Quality of Life. Helsinki: National Institute for Health and Welfare.
- Lamoureux, E., Chong, E., Thumboo, J., Wee, H., Wang, J. & Saw, S. (2011). Vision impairment, Ocular Conditions, and Vision-Specific Function: the Singapore Malay Eye Study. *Ophthalmology*; 115; 1973–81.
- Lamoureux, E. L., Fenwick, E., Pesudovs, K. & Tan, D. (2011). The Impact of Cataract Surgery on Quality of Life: *Current Opinion in Ophthalmology*; 22; 19–27.

- Lisnawati, A. (2020). Perbedaan Kualitas Hidup Pasien Usia Lanjut Sebelum Dan Setelah Operasi Katarak. *Medical and Health Science Journal*; 4; 63-68.
- Stelmack, J., Rosenbloom, A. & Brenneman, C. (2013). Patients' Perceptions of the Need for Low Vision Devices. *Journal of Visual Impairment and Blindness*; 97; 521-35.
- Syawal, H. & Awaluddin, S. W. (2019). Faktor yang Berhubungan dengan Ketajaman Penglihatan Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 Di Wilayah Kerja Puskesmas Kecamatan Biringkanaya Kota Makasar. *Jurnal Media Keperawatan*; 9; 106-112.
- Tamansa, G. E., Saerang, J. S. M. & Rares, L. M. (2016). Hubungan Umur dan Jenis Kelamin dengan Angka Kejadian Katarak di Instalasi Raat Jalan (Poliklinik Mata). *Jurnal Kedokteran Klinik*; 1; 64-69.
- Tana, L. & Mihardja, L. (2016). Merokok dan Usia sebagai Faktor Risiko Katarak pada Pekerja Berusia  $\geq$  30 Tahun di Bidang Pertanian. *Universa Medicina*; 26; 120-128.
- Vellante, M., Baron-Cohen, S., Melis, M., Marrone, M., Petretto, D. R., Masala, C., dkk., 2013. The "Reading the Mind in the Eyes" Test: Systematic Review of Psychometric Properties and a Validation Study in Italy. *Cognitive Neuropsychiatry*; 18; 326-354.
- Visser, M. S., Amarakoon, S., Missotten, T., Timman, R. & Busschbach, J. J. (2017). SF-6D Utility Values for the Better- And Worse-Seeing Eye for Health States Based on the Snellen Equivalent in Patients with Age-Related Macular Degeneration. *PLOS ONE*; 12; 1-9.
- Yunaningsih, A. & Ibrahim, K. (2017). Analisis Faktor Resiko Kebiasaan Merokok, Paparan Sinar Ultraviolet dan Konsumsi Antioksidan terhadap Kejadian Katarak di Poli Mata Rumah Sakit Umum Bahteramas Kendari Sulawesi Tenggara. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kesehatan Masyarakat*; 2; 1-9.
- Zhu, M., Yu, J., Zhang, J., Yan, Q. & Liu, Y. (2015). Evaluating Vision-Related Quality of Life in Preoperative Age-Related Cataract Patients and Analyzing Its Influencing Factors in China: A Cross-Sectional Study. *BMC Ophthalmology*; 15; 1-7.

## Evaluasi Penggunaan Antibiotik pada Pasien Sepsis Neonatus di Rumah Sakit X Purwakarta

### *Evaluation of Antibiotic Use in Neonatus Sepsis Patients in X Purwakarta Hospital*

Rani Hendiyani<sup>1\*</sup>, Wawaimuli Arozal<sup>1,2</sup>, Hesty Utami Ramadaniati<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pasca Sarjana, Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Farmakologi & Teraupetik, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Indonesia

\*Corresponding author: ranihendiyani@gmail.com

Submitted: 16 September 2020

Accepted: 2 July 2021

Published: 30 November 2021

#### **Abstract**

**Background:** The high morbidity and mortality rates in neonates are caused by sepsis. Bacteria is one of the causes, so that antibiotics are one of the empirical therapies. Irrational use of antibiotics can cause bacteria to become resistant, so that the goal of therapy is not optimal. **Objectives:** This study aimed to evaluate the antibiotics used by neonatal sepsis patients in terms of quality (Gyssens method) and quantity (Defined Daily Dose method) and to determine the relationship between drug rationale and length of stay using the Spearman Rank correlation test. **Methods:** This research was observational research with a Cross-sectional designed and analysed using the descriptive-analytic method. Prospective patient data collection from May-July 2019 obtained 67 medical records that met the inclusion criteria. **Results:** The evaluation of the quality of antibiotics, it was found that 26 patients (37.7%) of the use of appropriate antibiotics were correct and 43 patients were incorrect, including 56.5% inaccurate doses of antibiotics, 4.3% because there were other antibiotics that were more effective and 1.4% the existence of antibiotics too long while the quantity of antibiotics use was 12.9 DDD/100 patient days including Ampicilin Sulbactam (3.25), Cefoperazone Sulbactam (4), Meropenem (2.42) while the value DDD exceeding WHO standard values were gentamicin (1.94) and Amikacin (1.29). Correlation results found  $r = 0.223$  ( $P \geq 0.05$ ), indicating that the correlation between rational use of drugs with the length of stay was low. **Conclusion:** Inappropriate use of antibiotics still exists with quantities exceeding WHO standards.

**Keywords:** neonatal sepsis, antibiotics, gyssens method, DDD (defined daily dose) method, rank Spearman correlation test

#### **Abstrak**

**Pendahuluan:** Angka morbiditas dan mortalitas yang tinggi pada neonatus disebabkan oleh sepsis. Bakteri sebagai salah satu penyebabnya sehingga antibiotik menjadi salah satu terapi *empiris*. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten sehingga tujuan terapi tidak optimal. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan mengevaluasi antibiotik yang digunakan oleh pasien sepsis neonatus baik dilihat dari kualitas (metode *Gyssens*) maupun kuantitas (metode *Defined Daily Dose*) serta untuk mengetahui hubungan antara rasionalitas obat dengan lama rawat menggunakan uji korelasi *Rank Spearman*. **Metode:** Penelitian *observasional* berdesain potong *lintang* yang di analisis secara *deskriptif analitik*. Pengumpulan data pasien secara *Prospektif* dari bulan Mei - Juli 2019 diperoleh 69 rekam medis yang memenuhi kriteria inklusi. **Hasil:** Dari hasil evaluasi kualitas antibiotik diperoleh penggunaan antibiotik tepat sebanyak 26 pasien (37,7%) dan tidak tepat sebanyak 43 pasien meliputi 56,5% dosis pemberian antibiotik tidak tepat, 4,3% karena terdapat antibiotik lain yang lebih efektif dan 1,4% adanya pemberian antibiotik terlalu lama sedangkan kuantitas penggunaan antibiotik diperoleh total 12,9 DDD/100 pasien-hari meliputi Ampisilin-sulbaktam 3,25 DDD/100 pasien-hari, Sefoperazone-sulbaktam 4 DDD/100 pasien-hari, Meropenem 2,42 DDD/100 pasien-hari sedangkan nilai DDD yang melebihi nilai standar WHO yaitu Gentamisin 1,94 DDD/100 pasien-hari dan Amikasin 12,9 DDD/100 pasien-hari meliputi Ampicilin-

Sulbaktam (3,25), Cefoperazone Sulbaktam (4), Meropenem (2,42) sedangkan nilai DDD yang melebihi nilai standar WHO yaitu gentamicin (1,94) dan Amikasin (1,29). Hasil korelasi diperoleh nilai  $r = 0,223$  ( $P \geq 0,05$ ) yang artinya korelasi rendah bahwa tidak menunjukkan adanya hubungan antara rasional obat dengan lama rawat.

**Kesimpulannya:** Penggunaan antibiotik yang tidak tepat masih ada dengan kuantitas melebihi standar WHO.

**Kata kunci:** sepsis neonatus, antibiotik, metode *gyssens*, metode DDD (*defined daily dose*), uji korelasi *rank Spearman*

## PENDAHULUAN

Setiap tahun terdapat 5 juta kematian neonatus berdasarkan data perkiraan World Health Organization (WHO) (1996), yang terdiri dari 34/1000 kelahiran hidup sebagai angka mortalitas neonatus (kematian dalam 28 hari pertama kehidupan) dan 98% kematian tersebut berasal dari negara berkembang. Angka kejadian sepsis neonatus di negara berkembang masih lebih tinggi (1,8 - 18/1000 kelahiran hidup), dibandingkan di negara maju (4 - 5/1000 kelahiran hidup) (Wilar dkk., 2016). Dalam laporan WHO yang di kutip dari *State of the world's mother 2007* (data tahun 2000 - 2003), dikemukakan bahwa 36% dari kematian neonatus disebabkan oleh penyakit infeksi, diantaranya: sepsis, pneumonia, tetanus dan diare. Di beberapa rumah sakit rujukan di Indonesia seperti RS Cipto Mangunkusumo Jakarta periode Januari – September 2005 kasus sepsis neonatus sebesar 13,68% sedangkan angka kematian berkisar antara 14 - 18 % (Depkes RI, 2007).

Bakteri, virus, parasit atau jamur merupakan kuman-kuman penyebab infeksi berat yang mengarah pada terjadinya sepsis. Salah satu kuman yang paling sering menyebabkan sepsis adalah bakteri (Lubis dkk, 2013), maka diperlukan antibiotik untuk jenis terapinya. Apabila antibiotik yang diberikan tidak tepat dapat menyebabkan dampak yang merugikan misalnya resistensi terhadap bakteri meningkat, timbul efek samping yang tidak dikehendaki dan biaya yang harus dikeluarkan jadi meningkat (Kemenkes RI, 2016).

Berdasarkan hasil penelitian Haryani & Apriyanti (2016) di RSUP Fatmawati Jakarta pada periode Januari – Februari 2016 dari 42 sampel diperoleh hasil bahwa sepsis neonates dominan dialami oleh bayi laki-laki sebanyak 61,9%, dengan Berat Bayi Lahir Rendah (BBLR) 69,1%, 59,5% persalinannya secara saecar, 64,3% dengan umur kehamilan prematur dan 81% terjadi pada sepsis awitan dini. Penggunaan antibiotik terbanyak adalah antibiotik Amoksisillin-Gentamisin sebanyak 38 pasien, diikuti Cefotaksim-Mikasin (25 pasien) atau Fosfomycin Na (1 pasien), dan Ceftazidim (14 pasien) atau Meropenem (12 pasien). Sebanyak

40,5% dosis antibiotik yang diberikan tidak rasional (21,5% kurang dari dosis yang seharusnya dan 19% lebih dari dosis yang seharusnya) disebabkan penggunaannya yang terlalu lama (> 14 hari) dan terlalu singkat (< 7 hari). Penelitian lain dari Aprisa (2019) di RSUD DR. Soetomo pada ruang NICU IGD, diperoleh hasil bahwa dari 35 pasien yang paling banyak menggunakan antibiotik kombinasi Ampisilin dan Gentamisin (57,14%). Gentamisin merupakan antibiotik dengan nilai DDD tertinggi yaitu 3,58 DDD/100 pasien-hari artinya dari 100 pasien yang dirawat terdapat 4 pasien yang menggunakan antibiotik 0,24 g Gentamisin setiap harinya dan nilai total DDD diperoleh 10,93 DDD/100 pasien-hari.

Menurut data laporan tahunan di Rumah Sakit X tahun 2018 jumlah pasien sepsis neonatus meningkat 13% dibandingkan tahun 2017. Angka kejadian sepsis neonatus menunjukkan bahwa penyakit sepsis neonatus menduduki urutan ke-2 setelah penyakit neonatus hiperbilirubin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui antibiotik yang digunakan pasien sepsis neonatus baik dari kualitas maupun kuantitasnya.

Berdasarkan data tersebut maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian di Rumah Sakit X, yang bertujuan untuk mengetahui karakteristik pasien sepsis neonatus, mengetahui penggunaan antibiotik terutama kualitas dan kuantitasnya, mengetahui hubungan *outcome* klinis dengan lama rawat.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Rekam medis pasien sepsis neonatus yang sedang di rawat di ruang rawat inap neonatal Rumah Sakit X pada periode Mei – Juli 2019.

### Alat

Alur *Gyssen* untuk menentukan kualitas antibiotik yang digunakan, Rumus perhitungan DDD (*Defined Daily Dose*) untuk menentukan kuantitas antibiotik yang digunakan.

### Metode

Sebelum melakukan penelitian ini, penulis mengajukan izin etik penelitian ke Komite Etik di RS.

Esnawan Jakarta dan memperolehnya dengan Nomor Sket/05/V/2019/ KEPK.

Penelitian ini dilakukan dari bulan Mei s/d Juli 2019 di ruang rawat inap neonatal Rumah Sakit X terhadap antibiotik yang digunakan pasien sepsis neonatus. Penelitian ini merupakan jenis penelitian *observasional* dengan analisis secara *deskriptif analitik*, menggunakan desain potong lintang. Populasi yang diteliti adalah pasien sepsis neonatus yang memenuhi kriteria inklusi, yaitu pasien dengan data rekam medis lengkap, pasien bayi usia < 28 hari dengan sepsis neonatus dengan atau tanpa penyakit penyerta, mendapat antibiotika empiris paling sedikit 2 hari. Selain itu memiliki data karakteristik pasien (jenis kelamin, berat badan bayi sewaktu lahir, berat badan bayi sewaktu sepsis, usia bayi saat sepsis, jenis sepsis, penyakit penyerta, lama masa kehamilan, riwayat ibu pada saat persalinan).

Pengumpulan data dilakukan dengan pencatatan data sesuai kebutuhan penelitian menggunakan form pencatatan data. Kemudian data tersebut di analisa secara kuantitatif (metode DDD/*Defined Daily Dose*) dan kualitatif (metode *Gyssens*).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Pasien yang menjadi subjek penelitian selama periode Mei – Juli 2019 berjumlah 80, baik yang berasal dari persalinan di luar maupun yang lahir di Rumah

Sakit X. Seluruh pasien sepsis neonatus dan menerima pengobatan dengan menggunakan antibiotik. Dari 80 pasien tersebut hanya 67 pasien yang masuk kriteria inklusi karena 13 pasien lainnya dikeluarkan dari subjek penelitian dengan alasan pulang paksa/atas permintaan sendiri (APS) sebanyak 9 pasien, lama perawatan < 2 hari sebanyak 2 pasien dan rujukan dari rumah sakit lain yang telah mendapat antibiotika sebanyak 2 pasien.

Berdasarkan penelitian ini, dari 67 pasien untuk jenis kelamin pada pasien sepsis neonatus yang disajikan pada Tabel 1 diperoleh bahwa jenis kelamin paling banyak yaitu laki-laki sebanyak 37 pasien (55,2%) sedangkan jenis kelamin perempuan sebanyak 30 pasien (44,8%). Bayi yang mengalami sepsis paling banyak berjenis kelamin laki-laki. Hal tersebut berhubungan dengan faktor pertahanan tubuh yang bersifat *sex-linked*, satu gen yang berlokasi di kromosom X. MikroRNA yang terdapat dalam kromosom X adalah suatu molekul yang meregulasi protein yang dibutuhkan untuk sistem imunitas (Desai dkk., 2014). Bayi laki-laki memiliki satu kromosom X dan satu kromosom Y (XY) sedangkan bayi perempuan memiliki dua kromosom X (XX). Kromosom yang lebih banyak inilah yang menyebabkan fungsi pertahanan bayi perempuan terhadap infeksi lebih besar dibandingkan bayi laki-laki.

**Tabel 1.** Karakteristik klinis pasien sepsis pada neonatus

| Karakteristik                  | n = 67     |                |
|--------------------------------|------------|----------------|
|                                | Jumlah (n) | Persentase (%) |
| Jenis Kelamin                  |            |                |
| Laki-laki                      | 37         | 55,2           |
| Perempuan                      | 30         | 44,8           |
| Usia                           |            |                |
| 1 hari                         | 64         | 95,5           |
| 3 - 7 hari                     | 2          | 3,0            |
| 21 hari                        | 1          | 1,5            |
| Berat Badan Pasien             |            |                |
| BBLR (Bayi Berat Lahir Rendah) | 6          | 9,0            |
| BBLC (Bayi Berat Lahir Cukup)  | 57         | 85,0           |
| BBLL (Bayi Berat Lahir Lebih)  | 4          | 6,0            |
| Jenis Sepsis Neonatal          |            |                |
| SAD (Sepsis Awitan Dini)       | 64         | 95,5           |
| SAL (Sepsis Awitan Lambat)     | 3          | 4,5            |
| Riwayat Usia Kehamilan         |            |                |
| CB (Cukup Bulan)               | 64         | 95,5           |
| KB (Kurang Bulan)              | 3          | 4,5            |
| Penyakit Penyerta Bayi         |            |                |
| Dengan Penyakit Penyerta       | 7          | 10,4           |
| Tanpa Penyakit Penyerta        | 60         | 89,6           |
| Riwayat Persalinan             |            |                |
| Lahir normal                   | 34         | 50,7           |
| Bedah sesar                    | 33         | 49,3           |



Penelitian lainnya banyak yang menunjukkan bahwa bayi laki-laki lebih banyak mengalami sepsis di bandingkan bayi perempuan namun sampai saat ini belum ada penelitian yang membuktikan apakah ada kaitannya antara jenis kelamin dengan sepsis neonatus (Rasfa dkk., 2015).

Berdasarkan usia diperoleh data 95,5% pada usia 1 hari, 3% pada usia antara 3 - 7 hari dan 1,5% pada usia 21 hari. Pasien neonatus dengan usia 1 hari menunjukkan persentase yang lebih tinggi karena pada saat persalinan sangat rentan terkena infeksi yang bersifat nosokomial. Selain itu, infeksi bisa juga terjadi melalui saluran genital ibu karena adanya organisme bakteri.

Berdasarkan berat badan bayi diperoleh Bayi Berat Lahir Cukup (BBLC) 85,1% sedangkan yang lainnya 9% dengan Bayi Berat Lahir Rendah (BBLR) dan 6% dengan Bayi Berat Lahir Lebih (BBLL). Pada penelitian ini dimana bayi dengan BBLC lebih banyak sepsis. Hal ini dipengaruhi oleh faktor dari ibu yang mengalami koriamnionitis seperti ketuban pecah lama (> 18 jam), demam intrapartum ibu (> 38,4°C), leukositosis ibu, infeksi saluran kencing pada ibu dan infeksi karena kuman nosokomial. Menurut Wilar dkk. (2013), tidak terdapat hubungan yang bermakna antara sepsis neonatus dengan berat badan lahir pada bayi setelah dilakukan uji statistic.

Angka kejadian sepsis awitan dini diperoleh 95,5% lebih banyak dibandingkan sepsis awitan lambat hanya memperoleh 4,5%. Menurut Wilar dkk. (2009) dalam penelitiannya pada periode Januari - Juli 2009, setelah dianalisa yang menjadi penyebab sepsis awitan dini yaitu faktor-faktor yang berhubungan secara signifikan dengan sepsis neonatus salah satunya ketuban pecah dini > 18 jam. Pada penelitian ini, faktor yang menyebabkan SAD yaitu adanya korioamnionitis dan air ketuban berbau karena adanya data yang menunjukkan air ketuban yang berwarna hijau, keruh dan berwarna merah darah.

Menurut riwayat usia kehamilan diperoleh data kehamilan Cukup Bulan (CB) antara 37 - 42 minggu

sebanyak 95,5% atau 64 pasien dan Kurang Bulan (KB) kurang dari 37 minggu sebanyak 4,5% atau 3 pasien. Pada penelitian ini usia kelahiran dengan cukup bulan dari 64 pasien sebanyak 33 pasien air ketubannya berwarna hijau, 4 pasien keruh dan 1 pasien berwarna merah darah. Hal ini membuktikan bahwa warna air ketuban berpengaruh pada sepsis dan tidaknya pada bayi. Bayi lahir dengan air ketuban berwarna hijau, keruh atau merah darah berisiko terjadinya sepsis 10 kali lebih besar bila dibandingkan dengan bayi lahir dengan air ketuban tidak keruh. Sebagai media kultur yang kurang baik bagi bakteri, air ketuban di tambah adanya sejumlah mekonium di dalamnya, dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri terutama *Escherichia coli* dan *Listeria monocytogenes*. Air ketuban yang bercampur mekonium dapat menyebabkan janin berisiko lebih tinggi terinfeksi dibanding bayi yang lahir dengan air ketuban tidak keruh (Kosim dkk., 2010).

Pada penelitian ini pasien tanpa penyakit penyerta lebih banyak dibandingkan dengan penyakit penyerta yaitu sebanyak 60 pasien (89,6%) sepsis neonatus tanpa penyakit penyerta sedangkan sebanyak 7 pasien (10,4) sepsis neonatus dengan penyakit penyerta.

Riwayat persalinan normal lebih banyak yaitu 50,7% dibandingkan bedah saecar 49,3%. Pada penelitian ini riwayat persalinan normal lebih banyak menjadi penyebab terjadinya sepsis neonatus. Hal ini menunjukkan bahwa bayi dengan sepsis terjadi karena tertular pada saat dalam kandungan dan pada saat proses persalinan (Manuaba, 2014). Penggunaan alat saat dilakukan pertolongan pada proses persalinan atau pada saat resusitasi merupakan salah satu penyebab sepsis neonatus karena adanya kontaminasi kuman yang terjadi setelah lahir (IDAI, 2009).

#### **Evaluasi kualitas penggunaan antibiotik**

Pada Tabel 2 terdapat 5 varian antibiotik yang diberikan kepada pasien sepsis neonatal baik tunggal maupun kombinasi. Ada 63 pasien (94%) dari jumlah pasien menggunakan terapi antibiotik kombinasi lini pertama.

**Tabel 2.** Golongan dan jenis antibiotik pada pasien sepsis neonates

| Lini   | Golongan dan jenis antibiotik tunggal/kombinasi  | Jumlah resep (R/) | Persentase (%) |
|--------|--|-------------------|----------------|
| 1      | Penicilin dan Aminoglikosida<br>Ampisilin-sulbaktam dan Gentamisin   | 63                | 94             |
| 1,2    | Cefalosporin dan Aminoglikosida<br>Ampisilin-sulbaktam dan Gentamisin, sefopurazone-sulbaktam dan Amikasin | 1                 | 1,5            |
| 1,3    | Karbapenem<br>Ampisilin-sulbaktam dan Gentamisin, Meropenem  | 1                 | 1,5            |
| 2      | Cefalosporin dan Aminoglikosida<br>sefopurazone-sulbaktam dan Gentamisin                                   | 1                 | 1,5            |
| 3      | Karbapenem<br>Meropenem  | 1                 | 1,5            |
| Jumlah |  | 67                | 100            |

Penatalaksanaan sepsis neonatus di Rumah Sakit X, sebanyak 63 pasien (94%) diberikan terapi antibiotik lini 1 Ampisilin-sulbaktam dan Gentamisin sebagai terapi awal sampai pasien tersebut dinyatakan sembuh. Hal ini telah sesuai dengan pedoman pelayanan medis IDAI (2009). Kemudian, ada 2 pasien yang diberikan antibiotik terjadi pergantian, yaitu 1 pasien (1,5%) dari lini 1 ke lini 3, (Ampisilin + sulbaktam dan Gentamisin di ganti dengan Meropenem) dan 1 pasien (1,5%) dari lini 1 ke lini 2 (Ampisilin + sulbaktam dan Gentamisin di ganti dengan Sefoperazone + sulbaktam dan Amikasin). Pergantian terapi sepsis neonatus dari lini 1 ke lini 2, telah sesuai dengan penatalaksanaan terapi untuk sepsis neonatus menurut Depkes RI (2007) yaitu apabila pasien memburuk selama 3 hari dilihat dari keadaan umum (KU) setelah diberikan antibiotik lini 1, maka antibiotik di ganti dengan antibiotik lini 2 yaitu Sefoperazone dan Amikasin. Sedangkan 1 kasus (1,5%) menggunakan Sefoperazone + sulbaktam sebagai lini 2 di kombinasi dengan Gentamisin dan 1 kasus (1,5%) pasien sepsis neonatus diberikan terapi Meropenem sebagai lini 3.

Efek terapi dari penggunaan antibiotik tidak sama antara satu pasien dengan pasien yang lain tergantung pada kondisi klinik pasien yang ditunjukkan dengan KU semakin membaik atau semakin memburuk. Ini ditunjukkan pada adanya 1 pasien diberikan lini pertama kemudian karena KU tidak membaik diberikan lini ke tiga yaitu Meropenem tanpa pemberian lini ke dua terlebih dahulu. Selain itu ada juga pemberian langsung

lini kedua yaitu sefopurazone-sulbaktam dan Gentamisin dan satu kasus lagi pemberian antibiotik langsung di berikan lini ke tiga yaitu Meropenem. Hal ini karena melihat KU yang memburuk serta nilai CRP yang melebihi nilai normal sehingga dengan cepat pasien diberikan lini ke dua atau ke tiga. Pemberian antibiotik ini tidak didukung dengan uji kultur sehingga terapi tidak berdasarkan pola kumannya hanya berdasarkan KU dan pemeriksaan hematologi di liat dari nilai kritisnya.

Durasi penggunaan antibiotik yang ditunjukkan pada Tabel 3 tersingkat adalah 3 hari sebanyak 24 pasien (35,8%) telah sesuai dengan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2011) bahwa lama pemberian antibiotik kombinasi antara 48 - 72 jam (2 - 3 hari). Durasi penggunaan antibiotik terbanyak adalah 4 - 7 hari sebanyak 42 pasien (63,7%) dan > 7 hari (19 hari) dengan jumlah 1 pasien (1,5%), tidak sesuai prinsip penggunaan terapi antibiotik kombinasi menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2011). Jika lebih dari 3 hari (> 72 jam), harus di observasi dengan melakukan pemeriksaan untuk kondisi klinis pasien, pemeriksaan berdasarkan data mikrobiologis dan data penunjang lainnya. Hal ini tidak dilakukan untuk data mikrobiologis dan penunjang lainnya dikarenakan keterbatasan biaya dalam menangani pasien sepsis neonatus. Kebanyakan pasien sepsis neonatus adalah pasien BPJS dimana pengambilan data mikrobiologis membutuhkan biaya yang besar.

**Tabel 3.** Durasi pemberian antibiotik pada pasien sepsis neonatus

| Penggunaan antibiotik   | Durasi 3 hari | %    | Durasi 4 - 7 hari | %    | Durasi > 7 hari | %   | Jumlah Pasien | %   |
|---|---------------|------|-------------------|------|-----------------|-----|---------------|-----|
| <b>antibiotik Lini 1</b><br>Ampisilin-sulbaktam dan Gentamisin  | 24            | 35,8 | 39                | 58,2 |                 |     | 63            | 94  |
| <b>antibiotik Lini 1, Lini 2</b><br>Ampisilin-sulbaktam dan Gentamisin, Sefoperazone-sulbaktam dan Amikasin |               |      | 1                 | 1,5  |                 |     | 1             | 1,5 |
| <b>antibiotik Lini 1, Lini 3</b><br>Ampisilin-sulbaktam dan Gentamisin, Meropenem                           |               |      |                   |      | 1               | 1,5 | 1             | 1,5 |
| <b>antibiotik Lini 2</b><br>Sefoperazone-sulbaktam dan Gentamisin   |               |      | 1                 | 1,5  |                 |     | 1             | 1,5 |
| <b>antibiotik Lini 3</b><br>Meropenem   |               |      | 1                 | 1,5  |                 |     | 1             | 1,5 |
| Jumlah  | 24            | 35,8 | 42                | 63,7 | 1               | 1,5 | 67            |     |

Selain membutuhkan biaya yang besar juga dibutuhkan waktu yang panjang sedangkan penanganan sepsis neonatus harus segera dilakukan dengan pemberian antibiotik. Jika KU memburuk setelah 3 hari diberikan antibiotik, maka antibiotik diganti dari lini pertama ke lini kedua. Efek dari penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dengan pola kuman akan menimbulkan resistensi.

Tabel 4 menunjukkan ketepatan dosis penggunaan antibiotik yang diberikan kepada pasien sepsis neonatus. Pada penelitian ini terdapat 36 dosis dengan persentase 28% penggunaan antibiotika yang tepat, 20 dosis

dengan persentase 16% penggunaan antibiotik yang lebih dari dosis seharusnya dan 71 dengan persentase 56% dosis penggunaan antibiotik yang kurang dari dosis yang seharusnya. Besarnya lebih dosis dan kurang dosis pada penelitian ini sebagian disebabkan karena sulitnya memberikan dosis yang tepat karena berat badan pasien sehingga dokter berinisiatif melakukan pembulatan pada dosis yang terdapat bilangan di belakang koma sehingga yang terjadi yaitu lebih atau kurang dari dosis yang seharusnya sehingga pemberian antibiotik menjadi tidak tepat.

**Tabel 4.** Ketepatan dosis penggunaan antibiotik pasien sepsis neonatus

|                        | Total | Pemberian Dosis |            |            |
|------------------------|-------|-----------------|------------|------------|
|                        |       | Kurang          | Tepat      | Lebih      |
| Ampisilin-Sulbaktam    | 66    | 24 (36,4%)      | 27 (40,9%) | 15 (22,7%) |
| Gentamisin             | 66    | 56 (84,8%)      | 7 (10,6%)  | 3 (4,5%)   |
| Meropenem              | 2     | -               | -          | 2 (100%)   |
| Sefoperazone-sulbaktam | 2     | -               | 2 (100%)   | -          |
| Amikasin               | 1     | 1 (100%)        | -          | -          |
| Jumlah                 | 127   | 71(56%)         | 36 (28%)   | 20 (16%)   |

Pada rute pemberian antibiotik untuk semua pasien sepsis neonatus melalui rute intravena sesuai dengan kondisi bayi baru lahir dimana pada bayi baru lahir pemberian antibiotik selain intravena tidak memungkinkan contohnya melalui rute oral. Selain itu dipilih rute secara intravena karena sepsis neonatus merupakan infeksi berat sehingga diperlukan bioavailabilitas yang tinggi untuk menyerang segala bentuk bakteri yang terdapat dalam jumlah yang banyak di dalam darah.

Lama perawatan atau *Lenght of Stay* (LOS) pada pasien sepsis neonatus menurut Tabel 5 dengan lama rawat  $\leq 7$  hari yaitu 4 hari sebanyak 41 pasien atau 61%, 5 hari sebanyak 14 pasien atau 20,9%, 6 hari sebanyak 3 pasien atau 4,5%, 7 hari sebanyak 2 pasien atau 3%. Sedangkan  $\geq 7$  hari yaitu 8 hari sebanyak 1 pasien atau 1,5%, 10 hari sebanyak 1 pasien atau 1,5%, 14 hari sebanyak 1 pasien atau 1,5%, 17 hari sebanyak 1 pasien atau 1,5% dan 23 hari sebanyak 1 pasien atau 1,5%. Jadi total pasien dengan lama rawat  $\leq 7$  hari yang sesuai dengan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia

(2011) berjumlah 60 pasien atau 89,4%. Hal ini menunjukkan bahwa lama rawat pasien sepsis neonatus di Rumah Sakit X telah sesuai dengan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2011).

**Tabel 5.** Lama Rawat Inap atau *Length of Stay* (LOS)

| Lama Perawatan | Jumlah pasien | Persentase (%) |
|----------------|---------------|----------------|
| ≤ 4 hari       | 41            | 61             |
| 5 - 7 hari     | 21            | 3,4            |
| > 7 hari       | 5             | 7.5            |

Keberhasilan penggunaan antibiotik ditentukan oleh beberapa faktor seperti ketepatan dosis, cara pemberian, frekuensi pemakaian dan lama pemberian antibiotik. Hal ini di evaluasi dengan metode Meer &

Gyssens (2001) yaitu metode evaluasi persepan antibiotik dengan pendekatan kualitatif yang menilai 12 sub kategori dan dinyatakan dengan satuan persepan.

Pada Tabel 6 menunjukkan hasil 26 pasien menggunakan antibiotik tepat (kategori 0), 39 pasien diberikan terapi dengan dosis antibiotik tidak tepat (kategoriIIa), tiga pasien dinyatakan ada antibiotik lain yang lebih efektif (kategori IVa) dan 1 pasien antibiotik diberikan terlalu lama (kategori IIIa). Pada kategori Iva yaitu satu pasien dengan pengobatan langsung dengan lini ke 3, satu pasien dengan pengobatan langsung lini ke 2 dan satu pasien dengan pengobatan dari lini ke 1 dilanjutkan ke lini 3 dan satu pasien menunjukkan pemberian antibiotik lebih dari tujuh hari.

**Tabel 6.** Evaluasi Penggunaan antibiotik berdasarkan metode *Gyssens*

| Hasil metode <i>Gyssens</i>                | Jumlah pasien | (%)  |
|--|---------------|------|
| 0 Penggunaan antibiotik tepat/bijak        | 26            | 37,7 |
| IIa Dosis pemberian antibiotik tidak tepat | 39            | 56,5 |
| IVa Ada antibiotik lain yang lebih efektif | 3             | 4,3  |
| IIIa Pemberian terlalu lama                | 1             | 1,4  |
| Total                                      | 69            | 100  |

Penatalaksanaan terapi sepsis neonatus seharusnya dimulai dari lini pertama (Ampisilin-Gentamisin) jika tidak menunjukkan perbaikan maka di ganti dengan lini ke dua dan jika belum ada perbaikan maka diganti dengan lini ke 3 (Meropenem) dan pemberian antibiotik tidak lebih dari 7 hari karena hal ini akan menimbulkan resistensi terhadap antibiotic.

**Evaluasi kuantitas penggunaan antibiotik**

Pada penelitian ini durasi pemberian antibiotik yang paling banyak digunakan yaitu 3 - 4 hari sebanyak 93%. Pada sebagian besar penyakit infeksi, antibiotik yang diberikan selama 5 - 7 hari. Hal ini kemungkinan karena antibiotik yang diresepkan dengan tujuan terapi empiris. Jangka waktu pemberian antibiotik secara empiris yaitu selama 48 - 72 jam atau 2 - 3 hari. Pemberian antibiotik secara empiris, di pilih antibiotik dengan spektrum luas seperti antibiotik golongan penisilin dan aminoglikosida.

Penilaian kuantitas penggunaan antibiotik dari 67 catatan medik pasien sepsis neonatus didapat dari perhitungan DDD/100 hari rawat. Kuantitas antibiotik

yang digunakan semakin kecil menunjukkan bahwa dokter lebih selektif dalam persepan antibiotik sehingga lebih mendekati prinsip penggunaan antibiotik yang rasional.

Dalam penelitian ini didapatkan lima jenis antibiotik dengan total 12,9 g DDD/100 hari rawat seperti yang ditunjukkan pada Tabel 7. Penggunaan antibiotik dengan nilai lebih tinggi dari pada standar nilai DDD WHO adalah Gentamisin dengan nilai sebesar 1,94 g DDD/100 hari rawat dan Amikasin dengan nilai sebesar 1,29 g DDD/100 hari rawat. Jika nilai DDD lebih tinggi dari standar nilai DDD yang dikeluarkan WHO, itu menunjukkan bahwa persepan dan penggunaan antibiotik pada pasien kemungkinan tidak selektif sehingga di khawatirkan akan banyak ditemui antibiotik yang diresepkan dan digunakan pasien tidak tepat sehingga akan mempengaruhi kerasionalan antibiotik terutama kerasionalan ketepatan dosis. Ada 2 jenis antibiotik yang masuk ke dalam segmen DU 90% penggunaan tertinggi yaitu Ampisilin-sulbaktam dan Gentamisin.

**Tabel 7.** Evaluasi penggunaan antibiotik pasien sepsis neonatus berdasarkan DDD 100 pasien-hari

| Jenis antibiotik       | Kode ATC | DDD WHO/100 Hari Rawat (gram) | Pemberian Dosis (gram) (n = 67) | DDD (gram) | DDD/100 patient-days | %     | Segmen DU |
|------------------------|----------|-------------------------------|---------------------------------|------------|----------------------|-------|-----------|
| Ampisilin-sulbaktam    | J01CA01  | 6                             | 63,03                           | 10,50      | 3,25                 | 57,47 | 90%       |
| Gentamisin             | J01GB03  | 0,24                          | 1,51                            | 6,29       | 1,94                 | 34,37 |           |
| Meropenem              | J01DH02  | 3                             | 2,76                            | 0,92       | 2,42                 | 5,04  |           |
| Sefoperazone-sulbaktam | J01DD12  | 4                             | 1,92                            | 0,48       | 4                    | 2,63  | 10%       |
| Amikasin               | J01GB06  | 1                             | 0,09                            | 0,09       | 1,29                 | 0,49  |           |
| Total                  |          |                               | 69,31                           | 18,28      | 12,9                 | 100,0 |           |

**Outcome klinik setelah diberikan antibiotik**

Tabel 8 menunjukkan bahwa keadaan 67 pasien sepsis neonatus pada saat pulang dinyatakan 100% dalam kondisi sembuh. Pasien dinyatakan sembuh apabila tanda dan gejala sepsis sudah tidak muncul, hasil pemeriksaan penunjang, terjadi perbaikan seperti pada umumnya, keadaan bayi baik, suhu tubuh normal, percepatan pernafasan normal dan denyut nadi kembali normal.

**Hubungan antara rasionalitas antibiotik dengan lama rawat dan outcome klinisnya**

Pada Tabel 9 didapat hasil dari obat yang rasional sebanyak 19 pasien (28,4%) dengan lama rawat ≤ 4 hari

dan 7 pasien (10,4%) dengan lama rawat antar 5 - 7 hari. Hal ini sudah sesuai dengan pedoman dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2011) bahwa untuk pengobatan pasien infeksi adalah maksimal 7 hari. Sedangkan yang tidak rasional sebanyak 41 pasien (61,2%) dengan lama rawat ≤ 4 hari, 21 pasien (31,3%) dengan lama rawat 5 - 7 hari dan 5 pasien (7,5%) dengan lama rawat > 7 hari. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional akan menyebabkan resistensi.

**Tabel 8.** Keadaan pasien saat keluar dari rumah sakit

| Karakteristik                 | n = 67     |                |
|-------------------------------|------------|----------------|
|                               | Jumlah (n) | Persentase (%) |
| Keadaan Sewaktu Pulang Sembuh | 67         | 100,0          |

**Tabel 9** Hubungan antara rasionalitas obat dengan lama perawatan

| Lama Perawatan | Rasionalitas Obat |                    | Total (%)  |
|----------------|-------------------|--------------------|------------|
|                | Rasional (%)      | Tidak Rasional (%) |            |
| ≤ 4 hari       | 19 (28,4%)        | 22 (32,8%)         | 41 (61,2%) |
| 5 - 7 hari     | 7 (10,4%)         | 14 (20,9%)         | 21 (31,3%) |
| 5 - 7 hari     | 0                 | 5 (7,5%)           | 5 (7,5%)   |

Hasil dari uji *Rank Spearman* Tabel 10 menunjukkan nilai  $r = 0,223$  ( $P > 0,05$ ) artinya korelasi rendah hal ini menunjukkan bahwa variabel yang di uji tidak menunjukkan hubungan antara rasionalitas obat dengan lama perawatan karena signifikansi hasil korelasi lebih besar dari 0,05 (5%). Hasil korelasi ini mengartikan bahwa antara penggunaan antibiotik yang

rasional tidak ada hubungannya dengan seseorang lebih cepat atau lama dalam penyembuhan. Tidak adanya hubungan antara rasionalitas dengan seseorang lebih cepat atau lebih lama dalam penyembuhan karena evaluasi yang digunakan adalah literatur IDAI dan KEMENKES.

**Tabel 10.** Hasil Uji Rank Spearman

|                |                   | Correlations        |          |
|----------------|-------------------|---------------------|----------|
|                |                   |                     | RO - LOS |
| Spearman's rho | Rasionalitas Obat | Koefisien korelasi  | 1        |
|                |                   | Sig. (2-tailed)     | .        |
|                |                   | Jumlah populasi (N) | 67       |
|                | Lama Perawatan    | Koefisien korelasi  | 0,223    |
|                |                   | Sig. (2-tailed)     | 0,07     |
|                |                   | Jumlah populasi (N) | 67       |

**KESIMPULAN**

Profil pasien terbanyak sepsis neonatus adalah bayi laki-laki dengan usia 1 hari, Berat Lahir Cukup (BBLC), jenis Sepsis Awitan Dini, usia kehamilan Cukup Bulan (CB), tanpa penyakit penyerta dan persalinan normal. Golongan dan jenis antibiotika yang sering digunakan adalah kombinasi Ampisilin-sulbaktam dan gentamicin dengan persentase 94%, rute pemberian melalui intravena dan durasi paling banyak 4 - 7 hari. Hasil evaluasi kualitas penggunaan antibiotik diperoleh 38,8% penggunaan antibiotik tepat, 56,7% dosis pemberian antibiotik tidak tepat dan 4,5% terdapat antibiotik lain yang lebih efektif. Sedangkan untuk evaluasi kuantitas penggunaan antibiotik di peroleh antibiotik dengan standar nilai DDD lebih tinggi dari standar nilai DDD yang di keluarkan WHO yaitu Gentamisin dan Amikasin. *Outcome* klinik pasien sepsis neonatus setelah pemberian antibiotik dinyatakan sembuh. Hasil statistik dari uji *Rank Spearman* di peroleh nilai  $r = 0,223$  ( $P > 0,05$ ) artinya korelasi rendah. menunjukkan bahwa rasionalitas obat tidak ada hubungan dengan lama rawat.

Dari hasil penelitian ini, untuk selanjutnya perlu dilakukan penelitian dengan uji kultur untuk mengetahui pola kuman sehingga penggunaan antibiotik untuk sepsis neonatus bisa rasional dan perlu dilakukan evaluasi penggunaan antibiotika secara berkala khususnya pada pasien sepsis neonatus yang ada di Rumah Sakit X Purwakarta.

**UCAPAN TERIMA KASIH**

Penelitian ini bisa selesai dilaksanakan berkat dukungan dari pembimbing baik di Rumah Sakit X Purwakarta maupun di kampus Fakultas Farmasi Magister Ilmu Kefarmasian Universitas Pancasila Jakarta.

**DAFTAR PUSTAKA**

Aprisa, N. (2019). Studi Penggunaan Antibiotik Secara Kuantitatif pada Pasien yang Dirawat di NICU IGD RSUD Dr. Soetomo. *Skripsi*; Fakultas

Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia (Depkes RI) (2007). Penatalaksanaan Sepsis Neonatorum. Health Technology Assesmen Indonesia. Jakarta: Depkes RI.

Desai, P., Shah, A. N. & Pandya, T. (2014). C-reactive Protein, Immature to Total Neutrophil Ratio and Micro ESR in Early Diagnosis of Neonatal Sepsis. *International Journal of Biomedical and Advance Research*; 5; 364-66

Haryani, S. & Apriyanti, F. (2016). Evaluasi Terapi Obat Pada Pasien Sepsis Neonatal di Ruang Perinatologi RSUP Fatmawati Januari – Februari Tahun 2016. *Jurnal Fatmawati Hospital*; 1; 1–10.

Ikatan Dokter Anak Indonesia (IDAI) (2009). Sepsis Neonatal. Pedoman Pelayanan Medis Ikatan Dokter Anak Indonesia. Surabaya: IDAI.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2011). Pedoman Pelayanan Kefarmasian untuk Terapi Antibiotik. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes RI). (2016). Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik (Peraturan Menteri Kesehatan NO 72 TAHUN 2016). Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Kosim, M. S., Rini, A. E. & Suromo, L. B. (2010). Faktor Risiko Air Ketuban Keruh terhadap Kejadian Sepsis Awitan Dini pada Bayi Baru Lahir. *Sari Pediatri*; 12; 135-141

Lubis, B. M., Nelly, Syofiani, B., Sianturi, P., Azlin, E. & Tjipta, G. D. (2013). Hubungan Kultur Darah Pasien Tersangka Sepsis dengan NilaiP rokalsitonin dan C-Reactive Protein. *Sari Pediatri*; 15; 5-8.

Manuaba, I. B. G. (2014). Ilmu Kebidanan Penyakit Kandungan dan Keluarga Berencana. Jakarta: EGC.

Rasfa, R. A., Oyong, N. & Fatmawati. (2015). Uji Diagnostik Pemeriksaan C-reaktif Protein (CRP)

- pada Neonatus Tersangka Sepsis yang Dirawat di Instalasi Neonatus RSUD Arifin Achmad Provinsi Riau. *Jurnal Online Mahasiswa*; 2; 4-5.
- Meer, V. J. W. M. & Gyssens, I. C. (2001). Quality of Antimicrobial Drug Prescription in Hospital. *Clinical Microbiology and Infection*; 7; 12–15.
- WHO. (1996). Perinatal Mortality (Report No: WHO /FRH/MSM/967). Geneva: WHO.
- Wilar, R., Daud, D., As'ad, S., Febriani, D. B. & Mina. (2016). A Comparison of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin and Immature to Total Neutrophil Ratio for Diagnosing Early-Onset Neonatal Sepsis. *Paediatrica Indonesiana*; 56; 107-110.
- Wilar, R., Kumalasari, E., Suryanto, D. Y. & Gunawan, S. (2009). Faktor Risiko Sepsis Awitan Dini. *Sari Pediatri*; 12; 265-269.
- Wilar, R., Mantix, M., Lihawa, M. Y. (2013). Hubungan Jenis Persalinan dengan Kejadian Sepsis Neonatorum di RSUP Prof. DR. R. D. Kandou Manado. *E-Clinic*; 2; 1-5.

## Karakterisasi Karbamazepin Hasil Rekristalisasi Berbagai Pelarut Organik dengan Metode *Slow Evaporation*

### *Characterization of Carbamazepine from Recrystallization of Various Organic Solvents Using Slow Evaporation Method*

Indra\*, Rendi Rahman, Rika Yulianti

Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya, Indonesia

\*Corresponding author: indraf04@stikes-bth.ac.id

Submitted: 21 November 2020

Accepted: 16 June 2021

Published: 30 November 2021

#### **Abstract**

**Background:** Carbamazepine is a class II Biopharmaceutical Classification System (BCS), which means that carbamazepine has high membrane permeability and low solubility. Recrystallization is a way to modify crystals in an effort to change the physicochemical properties and dissolution rates of drugs. **Objective:** This study aims to evaluate the physicochemical properties of carbamazepine through the recrystallization of various solvents. **Methods:** This research carried out the recrystallization process of carbamazepine by evaporation of multiple solvents, namely ethanol, tetrahydrofuran (THF), and chloroform. The recrystallized solids were characterized using FTIR spectrophotometry, powder X-ray diffraction, and differential scanning calorimetry (DSC). Furthermore, the micromeritic evaluation and dissolution test was carried out. **Results:** The analysis results with FTIR and PXRD showed no change in the chemical structure of carbamazepine, but it caused changes in the internal structure and changes in the shape or called polymorphism of the carbamazepine crystals. Micromeritic evaluation showed a difference in the functional properties of the crystallized solids compared to pure carbamazepine, where the crystalline solids from ethanol recrystallization showed better micromeritic properties than the pure form. Carbamazepine crystals recrystallized using THF solvent have the highest dissolution rate than others, where at 60 minutes, the amount of dissolution is 65.09%. **Conclusion:** The recrystallization of carbamazepine with ethanol, tetrahydrofuran, and chloroform results in new polymorphs. The physicochemical properties of recrystallized solids differ from those of pure carbamazepine. Carbamazepine powder recrystallized with tetrahydrofuran solvent has the highest dissolution rate compared to other solvents.

**Keywords:** carbamazepine, crystallization, solvent, solids characterization, slow evaporation

#### **Abstrak**

**Pendahuluan:** Karbamazepin termasuk ke dalam golongan *Biopharmaceutical Classification System* (BCS) kelas II yang artinya bahwa karbamazepin memiliki permeabilitas membran tinggi dan kelarutan rendah. Rekristalisasi merupakan salah satu cara untuk memodifikasi kristal dalam upaya mengubah sifat fisikokimia dan laju disolusi obat. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi sifat fisikokimia karbamazepin melalui rekristalisasi berbagai pelarut. **Metode:** Pada penelitian ini dilakukan rekristalisasi dengan cara penguapan pelarut menggunakan pelarut etanol, tetrahidrofuran (THF), dan kloroform. Padatan kristal hasil rekristalisasi dikarakterisasi dengan menggunakan spektrofotometri FTIR, difraksi sinar-X (PXRD), dan analisis *differential scanning calorimetry* (DSC). Selanjutnya dilakukan evaluasi mikromeritik dan uji disolusi. **Hasil:** Berdasarkan hasil karakterisasi dengan FTIR dan PXRD menunjukkan tidak terjadi perubahan struktur kimia dari karbamazepin, tetapi menyebabkan perubahan internal struktur dan perubahan bentuk (polimorfisme) kristal karbamazepin. Hasil evaluasi mikromeritik menunjukkan adanya perubahan sifat fungsional pada padatan kristal hasil rekristalisasi dibandingkan dengan karbamazepin murni, diketahui padatan kristal hasil rekristalisasi etanol menunjukkan sifat mikromeritik yang lebih baik dibandingkan bentuk murni. Uji disolusi menunjukkan bahwa terjadi peningkatan laju disolusi pada padatan kristal hasil rekristalisasi berbagai pelarut dibandingkan dengan karbamazepin murni.



Pada padatan kristal hasil rekristalisasi THF memiliki laju disolusi paling tinggi dari pelarut yang lain, yaitu pada menit ke-60 jumlah terdisolusi sebesar 65,09%. **Kesimpulan:** Proses rekristalisasi karbamazepin dengan pelarut etanol, tetrahidrofuran dan kloroform menghasilkan polimorf baru sehingga sifat fisikokimia padatan hasil rekristalisasi berbeda dibandingkan karbamazepin murni. Berdasarkan hasil uji disolusi in vitro dapat diketahui bahwa karbamazepin hasil rekristalisasi dengan pelarut tetrahidrofuran memiliki laju disolusi yang paling tinggi.

**Kata kunci:** karbamazepin, rekristalisasi, pelarut, karakterisasi padatan, *slow evaporation*

## PENDAHULUAN

Karbamazepin digunakan sebagai antikonvulsi dalam pengobatan epilepsi. Karbamazepin tergolong dalam *Biopharmaceutical Classification System* (BCS) kelas II yang artinya bahwa karbamazepin memiliki permeabilitas membran yang tinggi dan kelarutan dalam air yang rendah. Hal ini menjadikan proses absorpsi karbamazepin terbatas pada laju disolusi (Grzesiak dkk., 2003).

Modifikasi kristal dapat digunakan dalam upaya mengubah kelarutan dan laju disolusi obat. Salah satu cara yang paling mudah untuk memodifikasi kristal adalah dengan kristalisasi (Flicker dkk., 2012). Kristalisasi dapat mengubah karakteristik kristal seperti habit, polimorfisme dan ukuran. Sifat dan tingkat perubahan tersebut tergantung pada kondisi kristalisasi termasuk jenis pelarut dan tahap penguapan serta adanya pengotor (Yanuar dkk., 2014).

Polimorf merupakan fase padatan yang memiliki struktur internal kristal yang berbeda dengan struktur kimia sama. Fenomena polimorfisme berimplikasi bahwa satu bentuk kristal dengan bentuk kristal yang lainnya walaupun molekul sama akan berbeda sifat fisikokimia seperti kelarutan, laju disolusi, titik leleh, dan stabilitas (Partogi dkk., 2014). Pemilihan polimorf bahan baku obat yang tepat, penting dilakukan untuk keberhasilan proses produksi menjadi bentuk sediaan obat. Berbagai proses produksi sediaan farmasi seperti granulasi, pengeringan, dan pengecilan ukuran partikel dapat berdampak pada perubahan struktur kristal obat seperti amorfisasi dan polimorfisme (Indra dkk., 2019). Oleh karena itu, sejak awal penting untuk memilih bentuk polimorf obat yang unggul pada kelarutan dan stabilitas sehingga tujuan efek terapi obat tercapai dan memudahkan proses produksi sediaan (Chieng dkk., 2011).

Penelitian polimorf karbamazepin yang telah dilakukan mengungkapkan ada tiga polimorf karbamazepin yaitu bentuk I, II, dan III. Polimorf III merupakan bentuk komersial, polimorf I diperoleh dengan memanaskan polimorf III, dan bentuk II diperoleh dengan rekristalisasi pelarut etanol

(Rustichelli dkk., 2000). Namun penelitian untuk mengetahui pengaruh rekristalisasi berbagai jenis pelarut terhadap pembentukan polimorf dan evaluasi sifat fisikokimia karbamazepin belum dilakukan. Pada penelitian ini pelarut yang digunakan untuk rekristalisasi karbamazepin adalah etanol, tetrahidrofuran, dan kloroform. Padatan hasil rekristalisasi kemudian dikarakterisasi menggunakan *Differential Scanning Calorimetry* (DSC), Difraksi Sinar-X, dan FTIR.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan adalah karbamazepin (PT. Indofarma), etanol EMSURE® (Merck), tetrahidrofuran EMSURE® (THF) (Merck), kloroform EMSURE® (Merck), aquabides (PT. Brataco).

### Alat

Alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10S UV-Vis), *magnetic stirrer* (Thermo Scientific), mikroskop binokuler (XSZ-107BN), *Differential Scanning Calorimeter* (DSC-60A, Shimadzu), X-Ray diffraktometer (Bruker-PXRD), *Fourier Transform Infrared* (Drawell-520A), alat disolusi (Universal Lab, ULD-8,) timbangan analitik (Mettler Toledo AG204), desikator dan alat-alat gelas.

### Metode

#### Kristalisasi

Sebanyak 1 g karbamazepin dilarutkan ke dalam masing-masing gelas kimia yang sudah berisi 25 mL pelarut etanol, THF dan kloroform. Masing-masing campuran kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan putaran 300 rpm selama 30 menit. Larutan kemudian disaring menggunakan *syringe filter* 0,45 µm kemudian pelarut dibiarkan menguap pada suhu kamar sampai diperoleh padatan kristal.

#### Habit kristal

Pengamatan habit kristal dilakukan terhadap kristal karbamazepin yang telah dikristalisasi menggunakan mikroskop cahaya. Sampel yang digunakan hanya seujung spatel kemudian diamati pada mikroskop dengan mengatur lensa objektif pada perbesaran 400x.

**Analisis FTIR**

Sampel baku dan hasil rekristalisasi dilakukan analisis dengan FTIR. Sampel dikempa menjadi pelet KBr dan direkam pada bilangan gelombang 4000 - 400 cm<sup>-1</sup>.

**Analisis PXRD**

Penetapan pola difraksi sinar-X dilakukan menggunakan difraktometer. Sampel hasil rekristalisasi karbamazepin direkam pada sudut 2θ 5 – 45° dengan *step size* 0,020° menggunakan radiasi CuKα (K<sub>α1</sub> = 1,54060 nm; K<sub>α2</sub> = 1,54439 nm) pada 40 kV dan 35 mA.

**Analisis DSC**

Sebanyak 50 mg sampel diletakkan pada *crucible* alumina instrumen DSC. Analisis termal dilakukan pada rentang temperatur 30 - 20°C dengan laju pemanasan 10°C per menit dan dengan aliran gas nitrogen.

**Evaluasi mikromeritik**

Evaluasi mikromeritik dilakukan pada sampel karbamazepin murni dan hasil rekristalisasi. Evaluasi mikromeritik yang dilakukan terdiri dari daya alir, bobot jenis ruah, bobot jenis mampat, perbandingan Haussner, kadar pemampatan, dan indeks kompresibilitas

**Uji penetapan kadar**

Sebanyak 50 mg sampel dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur 50 mL, kemudian diambil 2 mL dimasukan lagi ke dalam labu takar 50 dan tambahkan etanol sampai tanda batas. Selanjutnya serapan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 285 nm.

**Uji disolusi**

Uji disolusi menggunakan 900 mL air yang mengandung 1% natrium lauril sulfat dengan suhu 37°C ± 0,5°C dan kecepatan pengadukan 75 rpm. Karbamazepin murni dan hasil rekristalisasi diambil sebanyak 10 mL pada selang waktu 10, 20, 30, 45, dan 60 menit. Setiap pengambilan 10 mL sampel diganti dengan medium disolusi pada suhu dan volume yang sama. Sampel 10 mL difiltrasi menggunakan *syringe filter* 0,45 µm. Pengukuran serapan sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 285 nm (Medina dkk., 2014).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Identifikasi bahan baku karbamazepin**

Hasil pengamatan untuk identifikasi karbamazepin dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan tabel tersebut dapat disimpulkan bahwa bahan baku yang digunakan adalah karbamazepin.

**Tabel 1.** Identifikasi bahan baku karbamazepin

| No. | Identifikasi | Pengamatan | COA    |
|-----|--------------|------------|--------|
| 1   | Bentuk       | Serbuk     | Sesuai |
| 2   | Warna        | Putih      | Sesuai |
| 3   | Bau          | Khas       | Sesuai |
| 4   | Titik Leleh  | 189,2°C    | Sesuai |

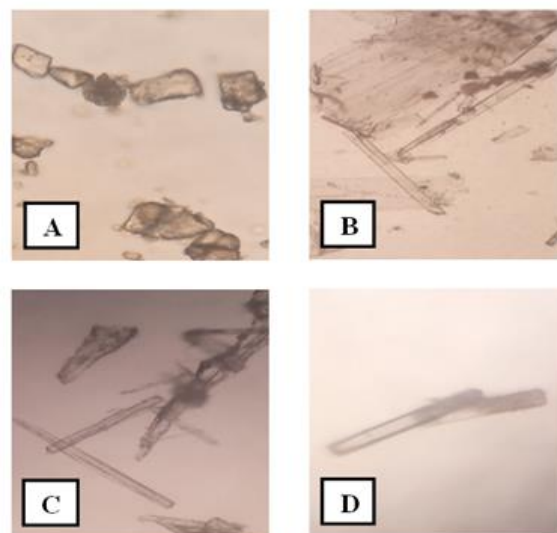
**Kristalisasi**

Pada proses rekristalisasi karbamazepin dilakukan dengan tiga pelarut berbeda yaitu kloroform, tetrahidrofuran, dan etanol dengan metode penguapan pelarut. Tujuan digunakan tiga pelarut yang berbeda yaitu untuk mengetahui dan mendapatkan bentuk kristal (*habit*) berbeda yang dapat menyebabkan terjadinya perubahan sistem kristal atau terjadi polimorfisme sehingga merubah sifat fisikokimia karbamazepin.

Padatan hasil penguapan berbagai pelarut berupa kristal berwarna putih yang selanjutnya dilakukan pengamatan *habit* kristal menggunakan mikroskop.

**Habit kristal**

Pada Gambar 1 terlihat bahwa karbamazepin murni berbentuk seperti bongkahan atau patahan kubus, hal tersebut terlihat dengan adanya bentuk persegi. Kemudian pada hasil rekristalisasi dengan pelarut kloroform, etanol dan tetrahidrofuran terlihat bahwa kristal berbentuk seperti jarum dengan ditandai adanya bentuk kristal panjang dan runcing menyerupai jarum. Perbedaan tersebut dipengaruhi oleh sifat pelarut yang digunakan dalam proses rekristalisasi.



**Gambar 1.** Hasil mikroskopik (a) karbamazepin murni, (b) etanol, (c) kloroform, (d) THF pada perbesaran 400x

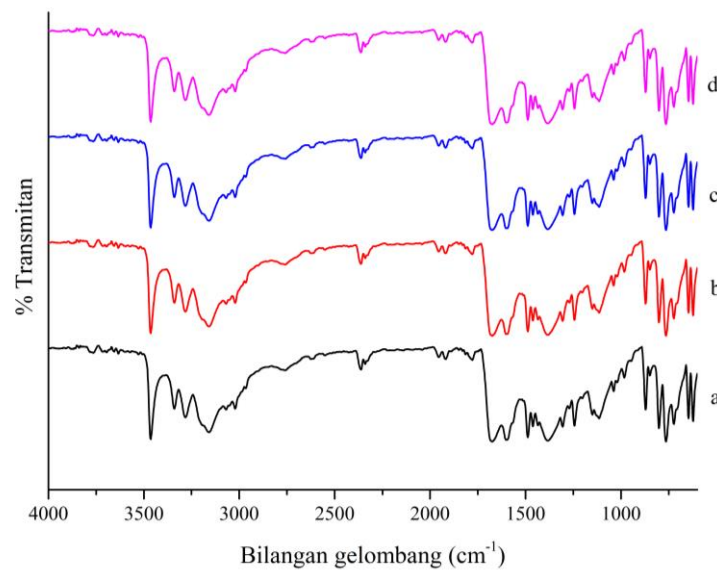
Dari hasil pengamatan tersebut dapat diketahui bahwa proses rekristalisasi menyebabkan terjadinya perubahan morfologi kristal (habit) dari suatu senyawa. Secara umum perubahan habit kristal terjadi karena adanya polimorfisme pada sistem kristal, yang disebabkan karena proses rekristalisasi pada pelarut yang berbeda (Zhu dkk., 2020). Karakterisasi padatan selanjutnya dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri FTIR, DSC dan PXRD untuk mengidentifikasi perubahan sistem kristal (polimorf).

**Analisis FTIR**

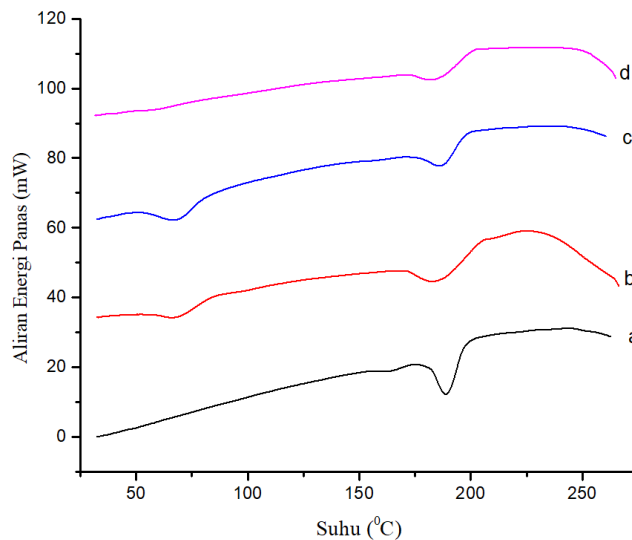
Analisis spektrofotometri infra merah dilakukan untuk mengetahui gugus fungsional suatu senyawa, mengidentifikasi senyawa, menentukan struktur

molekul, mempelajari mekanisme reaksi (Bunaciu & Aboul-Enein, 2020). Gambar 2 menunjukkan spektrum FTIR karbamazepin dan hasil rekristalisasi.

Bersumber pada spektrum FTIR karbamazepin murni dan hasil rekristalisasi dapat diketahui bahwa karakteristik puncak di 3464  $\text{cm}^{-1}$  untuk N-H *stretching*, di 1674  $\text{cm}^{-1}$  untuk C=O *stretching*, di 1489  $\text{cm}^{-1}$  untuk NH<sub>2</sub> *bonding*, dan di 1384  $\text{cm}^{-1}$  untuk gugus C-H. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Kristić dkk. (2015). Berdasarkan hasil pengamatan pola spektrum FTIR pada sampel serbuk hasil rekristalisasi dibandingkan dengan karbamazepin murni dapat disimpulkan bahwa proses rekristalisasi tidak merubah struktur karbamazepin.



**Gambar 2.** Spektrum serapan FTIR (a) karbamazepin murni, (b) rekristal-etanol, (c) rekristal-THF, dan (d) rekristal-kloroform



**Gambar 3.** Termogram DSC (a) karbamazepin murni, (b) rekristal-etanol, (c) rekristal-THF, dan (d) rekristal - kloroform

### Analisis DSC

Analisis termal yang umum digunakan untuk karakterisasi padatan obat adalah *Differential Scanning Calorimetry* (DSC). Gambar 3 merupakan termogram DSC karbamazepin dan hasil rekristalisasi.

Bersumber pada termogram DSC diperoleh informasi bahwa pada termogram karbamazepin menunjukkan kurva transisi endotermik pada puncak 189,2°C dengan panas peleburan -82,12 J/g; rekristalisasi etanol menunjukkan kurva transisi endotermik pada puncak 183,3°C dengan panas peleburan -42,75 J/g; rekristalisasi tetrahidrofur menunjukkan kurva transisi endotermik pada puncak 187,0°C dengan panas peleburan -90,28 J/g; dan rekristalisasi kloroform menunjukkan kurva transisi endotermik pada puncak 182,9°C dengan panas peleburan -38,32 J/g.

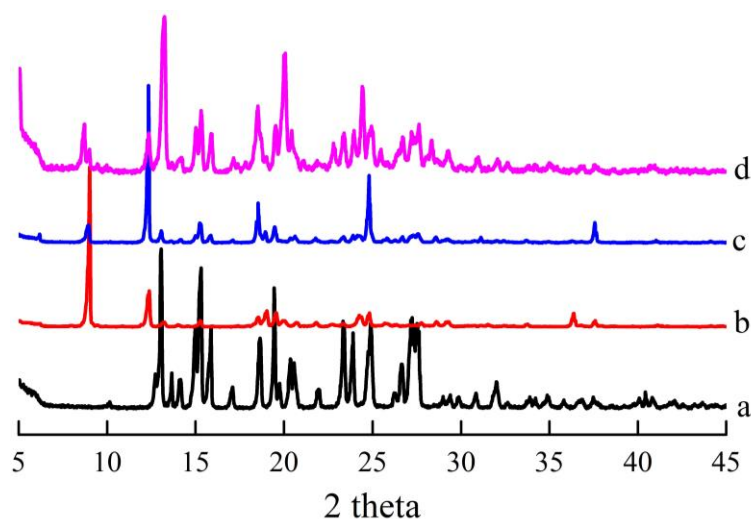
Termogram analisis DSC menunjukkan bahwa telah terjadi penurunan atau peningkatan transisi endotermik dan entalpi peleburan terhadap padatan kristal hasil rekristalisasi dibandingkan dengan karbamazepin murni, hal tersebut mengindikasikan

telah terjadinya perubahan bentuk polimorf karena adanya perubahan struktur internal dari kristal hasil rekristalisasi. Perubahan tersebut dipengaruhi kondisi dan pelarut yang digunakan (Abdul dkk., 2018). Analisis lebih lanjut dilakukan dengan pengamatan pola difraksi sinar-X untuk mengetahui adanya perubahan bentuk atau sistem kristal akibat pengaruh pelarut secara kristalografi.

### Analisis PXRD

Uji difraksi sinar-X dilakukan untuk identifikasi perubahan sistem kristal pada sampel karbamazepin. Gambar 4 menunjukkan difraktogram hasil analisis difraksi sinar-X.

Dari hasil difraktogram yang telah diketahui pola difraksi karbamazepin murni dan hasil rekristalisasi menunjukkan beberapa intensitas puncak difraksi. Pada difraktogram rekristalisasi muncul puncak-puncak yang berbeda dibandingkan karbamazepin murni yaitu pada sudut  $2\theta$  9,22; 12,36; 20; dan 24,45. Hal ini mengindikasikan terbentuknya formasi fase kristal yang berbeda (polimorf) pada kristal karbamazepin hasil rekristalisasi etanol, THF dan kloroform.



**Gambar 4.** Difraktogram (a) karbamazepin murni, (b) rekristal-etanol, (c) rekristal-THF, dan (d) rekristal-kloroform

Pada difraktogram hasil rekristalisasi pelarut menunjukkan intensitas difraktogram yang lebih tinggi dibandingkan dengan karbamazepin murni. Bersumber pada hasil ini maka dapat disimpulkan bahwa teknik rekristalisasi dengan pelarut dapat menyebabkan perubahan bentuk kristal (habit) dan menyebabkan terbentuknya fase kristalin baru (polimorfisme). Hal ini diperkuat dengan data termogram DSC dengan terjadinya perubahan titik leleh dan panas peleburan yang menyebabkan terjadinya perubahan internal struktur dari padatan kristal karbamazepin.

### Evaluasi mikromeritik

Pengujian mikromeritik dilakukan untuk mengetahui karakter fungsional dari karbamazepin murni serta hasil dari rekristalisasi berbagai pelarut. Hasil pengujian mikromeritik dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan data evaluasi di atas perubahan yang terjadi akibat proses rekristalisasi dengan pelarut tertentu dapat mempengaruhi tidak hanya sifat fisik kristal tetapi juga karakter fungsionalnya. Hal tersebut terlihat bahwa perubahan internal struktur dan habit kristal hasil rekristalisasi diikuti terjadinya peningkatan karakter fungsional pada padatan kristal etanol

dibandingkan dengan karbamazepin murni serta padatan kristal THF dan kloroform.

Hasil rekristal-etanol memiliki nilai kadar pemampatan sebesar 17,5% dan kadar pemampatan memenuhi syarat jika  $\leq 20\%$ . Indeks kompresibilitas memiliki nilai sebesar 17,49% dan serbuk memiliki aliran yang baik berada pada rentang 16 - 25%.

Selanjutnya perbandingan Hausner memiliki nilai 1,212 dan aliran yang baik berada pada nilai  $< 1,25$  (Maheshwari dkk., 2018). Hal tersebut menunjukkan bahwa padatan kristal hasil rekristal-etanol memiliki karakteristik mikromeritik lebih baik dibandingkan karbamazepin murni.

**Tabel 2.** Data pengujian mikromeritik

| Evaluasi Serbuk        | Hasil Pengamatan              |                             |                          |                                |
|------------------------|-------------------------------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------------|
|                        | Karbamazepin murni<br>(n = 3) | Rekristal-Etanol<br>(n = 3) | Rekristal-THF<br>(n = 3) | Rekristal-Kloroform<br>(n = 3) |
| Bobot Jenis Nyata      | 0,56 g/mL $\pm$ 0,552         | 0,50 g/mL $\pm$ 0,005       | 0,38 g/mL $\pm$ 0,002    | 0,39 g/mL $\pm$ 0,086          |
| Bobot Jenis Mampat     | 0,71 g/mL $\pm$ 0,023         | 0,61 g/mL $\pm$ 0,004       | 0,50 g/mL $\pm$ 0,003    | 0,50 g/mL $\pm$ 0,082          |
| Hausner Ratio          | 1,286 $\pm$ 0,002             | 1,212 $\pm$ 0,003           | 1,326 $\pm$ 0,025        | 1,298 $\pm$ 0,035              |
| Kadar Pemampatan       | 22,20% $\pm$ 0,005            | 17,50% $\pm$ 0,002          | 24,50% $\pm$ 0,002       | 23,07% $\pm$ 0,030             |
| Indeks Kompresibilitas | 22,20% $\pm$ 0,002            | 17,49% $\pm$ 0,032          | 24,60% $\pm$ 0,090       | 23,00% $\pm$ 0,004             |

**Uji penetapan kadar**

Pemeriksaan kadar karbamazepin bertujuan untuk mengetahui kandungan suatu senyawa memenuhi syarat seperti yang tertera pada masing-masing monografi.

Pada Tabel 3 dapat diketahui bahwa karbamazepin tanpa perlakuan dan hasil kristalisasi memiliki kadar sesuai dengan monografi Farmakope Indonesia edisi VI yaitu pada rentang 98% - 102% (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2020).

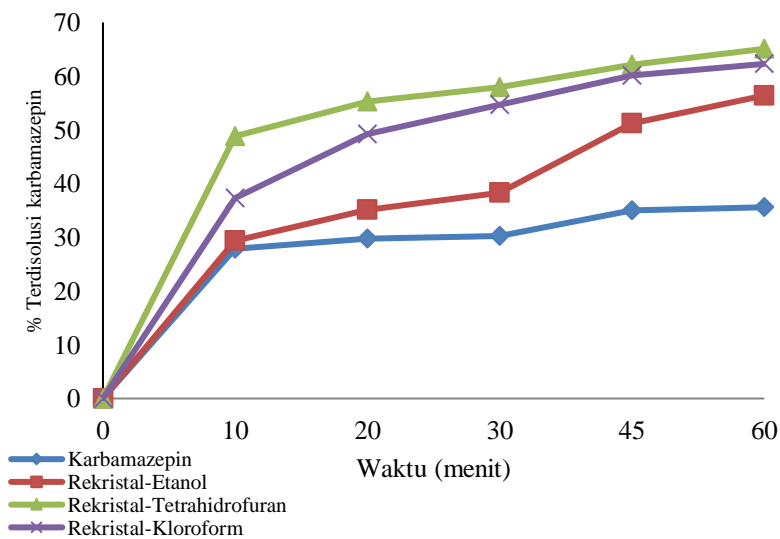
**Uji disolusi in vitro**

Uji disolusi ini dilakukan pada karbamazepin murni dan hasil kristalisasi dengan berbagai pelarut. Pada dasarnya disolusi diartikan sebagai proses penarikan

molekul wujud padat dipermukaan oleh molekul pelarut. Secara sederhana, disolusi adalah proses perubahan wujud padat menjadi terlarut oleh pelarut yang sesuai dan jika memenuhi syarat kompendial maka diharapkan obat akan memberikan khasiat secara in-vitro dengan baik (Uddin dkk., 2011).

**Tabel 3.** Uji kandungan karbamazepin murni dan hasil rekristalisasi

| Sampel              | % Kadar |
|---------------------|---------|
| Karbamazepin Murni  | 98,67%  |
| Rekristal-Etanol    | 98,67%  |
| Rekristal-THF       | 100,79% |
| Rekristal-Kloroform | 98,93%  |



**Gambar 5.** Profil disolusi karbamazepin murni dan hasil kristalisasi

Berdasarkan hasil uji disolusi (Gambar 5) menunjukkan perbedaan antara hasil kristalisasi berbagai pelarut dengan karbamazepin murni. Pada padatan kristal hasil kristalisasi THF memiliki laju disolusi lebih tinggi dari pada yang lain, yaitu pada menit ke-60 jumlah terdisolusi sebesar 65,09% dan terjadi peningkatan sebesar 1,83 kali dibandingkan dengan karbamazepin murni. Jumlah terdisolusi untuk

tinggi dari pada yang lain, yaitu pada menit ke-60 jumlah terdisolusi sebesar 65,09% dan terjadi peningkatan sebesar 1,83 kali dibandingkan dengan karbamazepin murni. Jumlah terdisolusi untuk

karbamazepin murni, rekristal-etanol, rekristal-kloroform masing-masing sebesar 35,60%; 56,40% dan 62,28%. Hasil pengujian disolusi, analisis termal dan difraksi sinar-X memberikan gambaran terhadap sifat fisika dan kimia kristal hasil rekristalisasi. Pada proses rekristalisasi perbedaan pelarut yang digunakan memiliki pengaruh besar terhadap karakteristik dari padatan kristal karbamazepin yang dihasilkan. Perbedaan pelarut tersebut menunjukkan perubahan dalam bentuk pola difraktogram XRD dan termogram DSC, yang memperlihatkan terjadinya perubahan internal struktur kisi kristal karbamazepin. Perubahan ini menyebabkan perbedaan pada gaya intermolekul karbamazepin sehingga molekul pelarut pada medium disolusi lebih mudah untuk menarik molekul karbamazepin. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa peningkatan laju disolusi terhadap modifikasi kristal hasil rekristalisasi berbagai pelarut dipengaruhi oleh perubahan internal struktur dari kristal karbamazepin yang diperkuat dengan data DSC dan PXRD.

## KESIMPULAN

Karakterisasi padatan terhadap karbamazepin hasil rekristalisasi dengan pelarut etanol, tetrahydrofuran dan kloroform, diperoleh habit kristal yang berbeda dibandingkan karbamazepin murni. Analisis DSC dan PXRD menunjukkan bahwa terjadi pembentukan polimorf dari kristal karbamazepin murni. Berdasarkan hasil evaluasi mikromeritik dan laju disolusi dapat diketahui bahwa karbamazepin hasil rekristalisasi lebih unggul dibandingkan bentuk murni. Pelarut THF dapat menghasilkan polimorf karbamazepin dengan laju disolusi tertinggi dan dapat menjadi alternatif untuk memperbaiki laju disolusi karbamazepin. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa proses rekristalisasi dapat dimanfaatkan sebagai upaya untuk meningkatkan sifat fisikokimia karbamazepin.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Program Studi Farmasi yang telah memfasilitasi penggunaan Laboratorium Penelitian. Peneliti juga mengucapkan terimakasih kepada Pusat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (P3M) Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada yang telah mendanai penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

Abdul, M. S. K., Bakar, M. R. A., Jamal, P., Adam, F., Man, R. C., Sulaiman, S. Z., Arshad, Z. I. M. &

- Shaarani, S. M. (2018). Effects of Solvents on Polymorphism and Shape of Mefenamic Acid Crystals. *MATEC Web of Conferences*; 150; 1–6.
- Bunaciu, A. A. & Aboul-Enein, H. Y. (2020). Adulterated Drug Analysis Using FTIR Spectroscopy. *Applied Spectroscopy Reviews*; 56; 1–15.
- Chiang, N., Rades, T. & Aaltonen, J. (2011). An Overview of Recent Studies on the Analysis of Pharmaceutical Polymorphs. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*; 55; 618–644.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2020) *Farmakope Indonesia edisi VI*; 824-830. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Flicker, F., Eberle, V. A. & Betz, G. (2012). Recrystallization of Commercial Carbamazepine Samples - a Strategy to Control Dissolution Variability. *Pharmaceutics*; 4; 58–70.
- Grzesiak, A. L., Lang, M., Kim, K. & Matzger, A. J. (2003). Comparison of the Four Anhydrous Polymorphs of Carbamazepine and the Crystal Structure of Form I. *Journal of Pharmaceutical Sciences*; 92; 2260–2271.
- Indra, I., Fauzi, A. & Aryani, R. (2019). Karakterisasi dan Uji Disolusi Aspirin Hasil Rekristalisasi Penguapan Pelarut. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*; 6; 164-170.
- Kristić, M., Popović, M., Dobričić, V. & Ibrić, S. (2015). Influence of Solid Drug Delivery System Formulation on Poorly Water-Soluble Drug Dissolution and Permeability. *Molecules*; 20; 14684–14698.
- Maheshwari, R., Todke, P., Kuche, K., Raval, N. & Tekade, R. K. (2018) *Micromeritics in Pharmaceutical Product Development, Dosage Form Design Considerations: Volume I*. Cambridge: Academic Press.
- Medina, J. R., Salazar, D. K., Hurtado, M., Cortés, A. R. & Domínguez-Ramírez, A. M. (2014). Comparative In Vitro Dissolution Study of Carbamazepine Immediate-Release Products Using the USP Paddles Method and the Flow-Through Cell System. *Saudi Pharmaceutical Journal*; 22; 141–147.
- Partogi H, T., Soewandhi, S. N., Pamudji, J. S. & Saleh, W. (2014). Preparasi dan Karakterisasi Polimorfisme Obat Anti Malaria Artesunate. *Jurnal Sains Materi Indonesia*; 15; 88–94.

- Rustichelli, C., Gamberini, G., Ferioli, V., Gamberini, M. C., Ficarra, R. & Tommasini, S. (2000). Solid-state Study of Polymorphic Drugs: Carbamazepine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*; 23; 41–54.
- Uddin, R., Saffoon, N. & Bishwajit, S. (2011). Dissolution and Dissolution Apparatus: A Review. *International Journal of Current Biomedical and Pharmaceutical Research*; 1; 201–207.
- Yanuar, A., Nursanti, N. & Anwar, E. (2014). Eksplorasi dan Karakterisasi berbagai Kristal Ibuprofen. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*; 7; 43–51.
- Zhu, D., Zhang, S., Cui, P., Wang, C., Dai, J., Zhou, L., Huang, Y., Hou, B., Hao, H., Zhou, L. & Yin, Q. (2020). Solvent Effects on Catechol Crystal Habits and Aspect Ratios: A Combination of Experiments and Molecular. *Crystals*; 10; 1-16.

## Uji Aktivitas Senyawa Bahan Alam terhadap Enzim Mpro pada SARS-CoV-2 Secara *In Silico*

### *The In Silico Study of Natural Compounds Activity against Mpro in SARS-CoV-2*

Syahrul Hidayat\*, Afifah Cahyohartoto, Ayu Utami Dewi, Izzah Al Mukminah, Oktavia Sabetta Sigalingging  
Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Bandung, Indonesia

\*Corresponding author: syahrul17001@mail.unpad.ac.id

Submitted: 31 December 2020

Accepted: 9 June 2021

Published: 30 November 2021

#### **Abstract**

**Background:** More than 200 countries have experienced more than 30 million positive cases of COVID-19, with a death rate of over 1 million. More than 300 thousand cases of COVID-19 have been confirmed in Indonesia, with 11 thousand deaths recorded in September 2020. The drugs currently used include azithromycin, remdesivir, oseltamivir, and nelfinavir. However, these drugs are reported to have shortcomings, so further research is needed to find the active compounds to suppress COVID-19 effectively. In terms of finding active compounds that can act as antiviral agents for SARS-CoV-2, phytochemical studies of compounds from natural ingredients are continuously being carried out. Phentermin, luteoline-7-galactoside, maslinic acid, glizirizinic acid, plantaricin, terpineol, guaiol, linalool, scutellarine-7-galactoside, and galocatechin have been shown to inhibit the ACE-2 protein which is the entry point for SARS-CoV-2 in the epithelial cells of the human respiratory system. **Objective:** The study was conducted to discover the other potential of these natural compounds against the virus through interactions with the Mpro enzyme as an essential part of viral replication and transcription. **Methods:** The study was conducted with a molecular docking simulation of the test compound against the Mpro enzyme (<http://www.rcsb.org>, PDB ID: 6LU7). **Results:** Maslinic acid is the compound with the most potential interaction with Mpro with a Gibbs free energy of -8.73 kcal/mol, inhibition constant of 0.40  $\mu\text{M}$ , and hydrogen bond interaction with the catalytic residue of Mpro, Cys145. **Conclusion:** Maslinic acid is the compound with the highest potentials for the Mpro in SARS-CoV-2.

**Keywords:** COVID-19, in silico, Mpro, molecular docking simulation

#### **Abstrak**

**Pendahuluan:** Lebih dari 200 negara telah mengalami 30 juta lebih kasus positif COVID-19 dengan angka kematian di atas 1 juta. Di Indonesia, telah terkonfirmasi 300 ribu lebih kasus COVID-19 dengan 11 ribu kasus kematian tercatat pada September 2020. Obat-obatan yang saat ini dijadikan pedoman terapi di antaranya, azitromisin, remdesivir, oseltamivir, dan nelfinavir. Akan tetapi, obat-obatan tersebut dilaporkan memiliki kekurangan sehingga penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menemukan senyawa aktif untuk menekan COVID-19 secara efektif dan efisien. Dalam hal pencarian senyawa aktif yang berpotensi sebagai antivirus SARS-CoV-2, studi fitokimia terhadap senyawa-senyawa bahan alam terus dilakukan. Senyawa fentermin, luteolin-7-galaktosida, asam maslinat, asam glizirizinat, plantarisin, terpineol, guaiol, linalool, skutelarin-7-galaktosida, dan galokatekin telah diketahui dapat menghambat protein ACE-2 yang merupakan tempat masuk SARS-CoV-2 pada sel epitel sistem pernapasan manusia. **Tujuan:** Penelitian dilakukan untuk menemukan potensi interaksi lain senyawa bahan alam tersebut terhadap tubuh virus melalui interaksi dengan enzim Mpro sebagai komponen penting dalam replikasi dan transkripsi virus. **Metode:** Penelitian dilakukan dengan simulasi penambatan molekuler senyawa uji terhadap enzim Mpro (<http://www.rcsb.org>, PDB ID: 6LU7). **Hasil:** Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, asam maslinat merupakan senyawa dengan interaksi terhadap Mpro paling potensial dengan energi bebas Gibbs sebesar -8,73 kkal/mol dan konstanta inhibisi 0,40  $\mu\text{M}$  dan interaksi ikatan hidrogen dengan residu katalitik Mpro



Cys145. **Kesimpulan:** Asam maslinat merupakan senyawa dengan potensi aktivitas dan afinitas paling tinggi terhadap enzim Mpro pada SARS-CoV-2.

**Kata kunci:** COVID-19, *in silico*, Mpro, senyawa bahan alam, simulasi penambatan molekuler

## PENDAHULUAN

Pada 14 September 2020, sebanyak 216 negara mengalami kasus positif COVID-19 dengan setidaknya sebanyak 37.152.125 jiwa terpengaruh dan menyebabkan kematian pada 1.073.323 penduduk dunia. Di Indonesia, kasus COVID-19 terkonfirmasi sebanyak 328.952 kasus positif, jumlah pasien yang telah sembuh sebanyak 251.481 serta 11.765 kasus kematian (WHO, 2020a).

COVID-19 merupakan penyakit infeksi pernapasan yang disebabkan oleh *severe acute respiratory syndrome coronavirus-2* (SARS-CoV-2) (Wan dkk., 2020). SARS-CoV-2 merupakan virus golongan coronaviridae dari subgenus sarbecovirus yang dapat menginfeksi manusia serta beberapa spesies hewan (Wong dkk., 2020). Pasien yang terinfeksi SARS-CoV-2 mengalami gejala ringan sampai berat bahkan tidak mengalami gejala sama sekali. Gejala akibat infeksi ini di antaranya: demam, batuk kering, dan sesak napas (CDC, 2020; Chen dkk., 2020; Hui dkk., 2020; Tressler, 2020; WHO, 2020b).

Obat-obatan yang saat ini dijadikan pedoman terapi di antaranya, azitromisin, remdesivir, oseltamivir, dan nelfinavir. Akan tetapi, obat-obatan tersebut dilaporkan memiliki permasalahan terkait kardi toksisitas serta inkompatibilitas terhadap obat antituberkulosis sedangkan disfungsi jantung serta tuberkulosis merupakan komorbid dari COVID-19. Oleh karena itu, pemberian obat-obatan ini memiliki risiko tinggi jika diberikan pada pasien dengan komorbid disfungsi jantung dan tuberkulosis (Chang & Sun, 2020; Chen dkk., 2006). Akibatnya, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menemukan senyawa aktif agar angka infeksi SARS-CoV-2 penyebab COVID-19 ini dapat diturunkan secara efektif dan efisien.

Dalam hal pencarian senyawa aktif yang berpotensi sebagai antivirus SARS-CoV-2, studi fitokimia terhadap senyawa-senyawa bahan alam terus dilakukan. Beberapa senyawa bahan alam dari seluruh dunia seperti fentermin, luteolin-7-galaktosida, asam maslinat, asam glizirizinat, plantarisin, terpineol, guaiol, linalool, skutelarlin-7-galaktosida, dan galokatekin telah diketahui memiliki aktivitas terhadap protein ACE-2 pada manusia yang merupakan tempat masuk SARS-CoV-2 pada sel epitel nasofaring manusia (Iheagwam

& Rotimi, 2020; Vardhan & Sahoo, 2020, Anwar dkk., 2020; My dkk., 2020; Sharma & Shanavas, 2020). Kesepuluh senyawa tersebut memiliki potensi afinitas pada protein yang terdapat pada sel inang. Oleh karena itu, penemuan potensi kesepuluh senyawa tersebut terhadap tubuh SARS-CoV-2 perlu diketahui untuk memunculkan potensi terapi multitarget dari kesepuluh senyawa tersebut. Penelaahan potensi multitarget senyawa uji dilakukan untuk meningkatkan potensi aktivitas senyawa dalam mengeliminasi COVID-19 untuk meningkatkan efektivitas terapi COVID-19. Potensi terapi multitarget difokuskan pada protein target Mpro atau *main protease* yang merupakan alat untuk transkripsi dan replikasi SARS-CoV-2 (Xu dkk., 2020). *Main protease* merupakan protein nonstruktural yang memiliki ikatan peptida pada asam amino glutamin serta memiliki dyad katalitik pada residu asam amino Cys145 dan His41 (Almasi & Mohammadipannah, 2020). Protein Mpro tidak memiliki homolog pada manusia sehingga protein ini tepat untuk dijadikan target terapi multitarget kesepuluh senyawa terpilih (Pillaiyar dkk., 2016).

Untuk menemukan potensi multitarget tersebut, langkah-langkah yang dilakukan merupakan penelitian secara kimia komputasi atau *in silico*. Kimia komputasi juga dapat digunakan untuk simulasi sistem-sistem besar atau pada molekul protein, gas, padatan, cairan, dan Kristal cair serta menerapkan program tersebut pada sistem kimia nyata. Dengan kimia komputasi dapat memahami sifat dan perubahan dari molekul seperti energi, struktur, momen dipol, kepolaran, energi dan selisih energi (Prianto, 2008).

## BAHAN DAN METODE

### Perangkat keras dan perangkat lunak

Perangkat keras yang digunakan adalah personal computer dengan spesifikasi Intel® Core™ i5-6600 CPU @ 3,90 GHz (4CPUs), GPU Nvidia Geforce GTX 970 4 Gigabyte OC Edition, dan RAM 8 Gigabyte DDR4. Adapun pada pengujian secara *in silico* menggunakan perangkat lunak meliputi:

1. Program ChemOffice 2010 dan ChemDraw Ultra 12.0 (PerkinElmer Inc., diunduh di <http://www.cambridgesoft.com/>) yang digunakan untuk menggambar struktur 2D dan struktur 3D.

2. Program AutoDock 4.2.6 dan AutoDockTools 1.5.6 (The Scripps Research Institute, diunduh di <http://www.autodock.scripps.edu/>) untuk melakukan simulasi penambatan molekuler.
3. Program BIOVIA Discovery Studio 2017 yang diunduh di <http://www.accelrys.com/> untuk memvisualisasikan kompleks pdb, ikatan antara ligan dengan enzim Mpro, optimasi geometri, dan validasi.
4. Program Ligandscout untuk melakukan pemodelan farmakofor.

#### Akuisisi struktur kimia

Struktur 3D Mpro diunduh dari *Protein Data Bank* (PDB) (<http://www.rcsb.org>, PDB ID: 6LU7). Sebagai hasil dari penggambaran kristalografi sinar-X, Mpro (6LU7) dikomplekskan dengan molekul N3. Pemisahan dilakukan dengan menggunakan BIOVIA Discovery Studio 2017 R2 Klien. Struktur 3D senyawa uji digambar dan dioptimalkan menggunakan ChemOffice 2010, dan ChemDraw Ultra 12.0 (PerkinElmer Inc.). Nelfinavir dipilih sebagai senyawa pembanding. Struktur 3D nelvinafir diunduh dari PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

#### Simulasi penambatan molekuler

AutodockTools 1.5.6 (*The Scripps research Institute, La Jolla*) digunakan untuk preparasi enzim dan ligan untuk penambatan molekuler. Hidrogen polar dan *Kollman charges* ditambahkan pada protein dan berkas disimpan sebagai PDBQT. *Gasteiger charges* ligan dihitung (Morris dkk., 2009; Weiner dkk., 1984). Ukuran kotak diatur pada  $26 \times 52 \times 32$  pada koordinat  $x = -9,732$ ;  $y = 11,403$ ; dan  $z = 68,925$  dengan jarak  $0,375 \text{ \AA}$ . *Genetic algorithm* diatur pada 100x pengulangan dan parameter lain diatur *default*. Autodock 4.2.6 digunakan untuk simulasi proses penambatan molekuler. Afinitas ikatan senyawa diteliti menggunakan *Discovery Studio Visualizer v17.2.0.1634* (BIOVIA, San Diego).

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Sejak Desember 2019, pandemi COVID-19 akibat SARS-CoV-2 telah menjadi permasalahan global yang utama (Sparrow, 2019). Hingga saat ini, obat untuk COVID-19 belum ditemukan, namun beberapa target obat yang potensial untuk menyembuhkan terapi COVID-19 telah diidentifikasi.

Salah satu target obat yang paling potensial dalam COVID-19 adalah enzim Mpro yang berperan penting dalam proses penerjemahan RNA virus menjadi poliprotein. Diperkirakan bahwa penghambatan enzim ini dapat menghentikan replikasi virus (Jin dkk., 2020).

Oleh karena itu, suatu studi kimia komputasi telah dilakukan untuk mengatasi wabah pandemi ini dengan cara menghambat protein Mpro dengan sepuluh senyawa uji, fentermin, luteolin-7-galaktosida, asam maslinat, asam glisirizinat, plantarisin, terpineol, guaiol, linalool, skutelarin-7-glukosida, dan galokatekin yang sebelumnya juga berpotensi terhadap protein ACE2 sebagai tempat masuk virus SARS-CoV-2 ke dalam sel epitel nasofaring inang (Hoffman dkk., 2020).

Kontrol penelitian simulasi penambatan molekuler digunakan untuk validasi parameter yang digunakan pada penelitian ini. Penambatan ulang senyawa N3 dari kompleks protein 6LU7 dilakukan pada situs ikatan Mpro. Nilai yang diukur berupa *Root Mean Square Deviation* (RMSD) yang menunjukkan simpangan dari pose ikatan yang terjadi pada ligan uji dibandingkan dengan pose ikatan referensi (hasil unduhan dari PDB). Semakin rendah nilai RMSD, semakin baik model yang ditambahkan pada struktur target (Sherman dkk., 2006).

Hasil validasi simulasi penambatan molekuler menunjukkan RMSD sebesar  $2,19 \text{ \AA}$ . Hasil validasi penambatan molekuler memenuhi syarat jika  $\text{RMSD} \leq 3 \text{ \AA}$  (Jain & Nicholls, 2008). Hal ini menunjukkan simulasi penambatan molekuler yang dilakukan telah memenuhi kualifikasi metode.

Studi yang dilakukan pada sepuluh senyawa uji, seperti: fentermin, luteolin-7-galaktosida, asam maslinat, asam glisirizinat, plantarisin, terpineol, guaiol, linalool, skutelarin-7-galaktosida, dan galokatekin terhadap protein Mpro telah menghasilkan parameter-parameter yang mengukur aktivitas dan afinitas senyawa terhadap protein Mpro menggunakan simulasi penambatan molekuler. Hasil penambatan molekuler dibandingkan dengan nelfinavir yang memiliki mekanisme sebagai penghambat enzim *main protease* pada SARS-CoV-2 (Xu dkk., 2020). Terdapat empat parameter yang digunakan (Tabel 1), yaitu: energi Gibbs, konstanta inhibisi, dan interaksi ikatan hidrogen dengan residu asam amino pada Mpro.

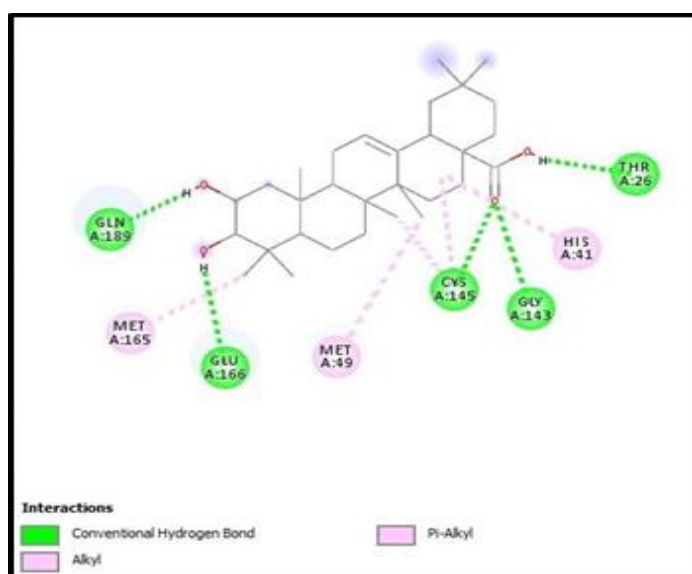
**Tabel 1** Parameter penambatan molekuler senyawa uji dengan enzim Mpro

| No. | Senyawa                 | Energi Bebas (kkal/mol) | Ki (µM) | Interaksi Ikatan Hidrogen dengan Residu Asam Amino |
|-----|-------------------------|-------------------------|---------|--|
| 1.  | Nelfinavir              | -13,02                  | 0,00028 | Gln189, Gly143, Glu166                             |
| 2.  | Fentermin               | -5,18                   | 159,92  | Gln189   |
| 3.  | Luteolin-7-galaktosida  | -8,09                   | 1,17    | Thr190, Gly143, Ser144, Leu141, His163             |
| 4.  | Asam maslinat           | -8,73                   | 0,40152 | Gln189, Glu166, Cys145, Gly143, Thr26              |
| 5.  | Asam glizirizinat       | -5,91                   | 46,28   | Gly143, Cys145, Glu166, Gly170                     |
| 6.  | Plantarisin             | -0,81                   | 254,98  | Gln192 dan Thr190                                  |
| 7.  | Terpineol               | -5,32                   | 124,98  | Glu166   |
| 8.  | Guaiol                  | -7,14                   | 5,82    | Glu166   |
| 9.  | Linalool                | -3,96                   | 1,26    | Gln189   |
| 10. | Skutellarin-7-glikosida | -4,43                   | 577,83  | Asp187, His41, Glu166                              |
| 11. | Galokatekin             | -6,43                   | 19,42   | Asn142, Gln189, Arg188, Glu166, Gln192, Thr190     |

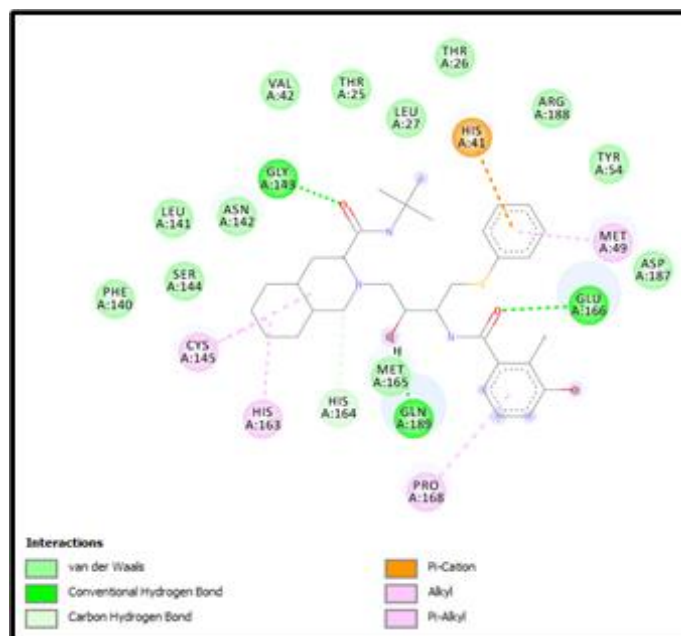
Berdasarkan hasil yang didapatkan (Tabel 1), senyawa asam maslinat memiliki energi Gibbs yang lebih besar dari senyawa uji lain, yaitu sebesar -8,73 kkal/mol yang mengindikasikan bahwa interaksi asam maslinat dengan Mpro berada pada tingkat yang lebih tinggi daripada senyawa uji yang lain. Semakin negatif energi Gibbs, semakin stabil ikatan yang terjadi sehingga afinitas senyawa terhadap protein target semakin baik (Kitchen dkk., 2004).

Parameter lain yang diukur adalah konstanta inhibisi (Ki). Nilai Ki yang kecil menunjukkan potensi kemampuan farmakologis senyawa uji dalam dosis yang lebih kecil (Du dkk., 2016). Asam maslinat memiliki nilai Ki 0,40 µM yang lebih kecil dari senyawa uji yang lain. Nilai tersebut mengindikasikan bahwa asam maslinat memiliki potensi farmakologis yang lebih tinggi daripada senyawa uji lain.

Analisis hasil penambatan molekuler penting untuk meninjau kemampuan senyawa uji untuk berinteraksi dengan *Ligand Binding Domain* (LBD) dari protein target. Residu asam amino pada LBD enzim Mpro yang berperan sebagai situs katalitik adalah Cys145 dan His41 sehingga senyawa antagonistik yang mampu menghambat LBD melalui ikatan dengan residu asam amino ini dengan interaksi ikatan hidrogen menyebabkan replikasi virus tidak dapat terjadi (Tahir dkk., 2020; Tripathi dkk., 2020). Asam maslinat membentuk interaksi ikatan hidrogen dengan residu Cys145 yang mengindikasikan bahwa asam maslinat berpotensi besar sebagai antagonis Mpro dalam penghambatan replikasi SARS-CoV-2 (Gambar 1) dibandingkan sembilan senyawa lainnya serta nelfinavir sebagai obat pembanding (tidak membentuk interaksi ikatan hidrogen dengan situs katalitik) (Gambar 2).



**Gambar 1.** Interaksi asam maslinat dengan enzim Mpro



Gambar 2. Interaksi nelfinavir dengan enzim Mpro

## KESIMPULAN

Berdasarkan studi yang telah dilakukan, dari sepuluh senyawa uji, asam maslinat memiliki potensi afinitas dan aktivitas paling tinggi terhadap enzim Mpro pada SARS-CoV-2. Asam maslinat memiliki energi bebas Gibbs sebesar  $-8,73$  kkal/mol dan konstanta inhibisi  $0,40$   $\mu$ M yang menunjukkan potensi ikatan dan farmakologis yang tinggi terhadap Mpro. Asam maslinat membentuk interaksi ikatan hidrogen dengan residu katalitik Mpro Cys145 yang menunjukkan potensi penghambatan pada Mpro.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran yang telah membantu dalam memfasilitasi penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

Almasi, F. & Mohammadipannah, F. (2020). Hypothetical Targets and Plausible Drugs of Coronavirus Infection Caused by SARS-CoV-2. *Transboundary and Emerging Diseases*; 68; 318-332.

Anwar, F., Altayb, H. N., Al-Abbasi, F. A., Al-Malki, A. L., Kamal, M. A. & Kumar, V. (2020). Antiviral Effects of Probiotic Metabolites on COVID-19. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*; 2020; 1–10.

CDC. (2020). Symptoms of Coronavirus. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/symptoms-testing/symptoms.html>. Accessed: 20 Oktober 2020.

Chang, R. & Sun, W, Z. (2020). Repositioning Chloroquine as Antiviral Prophylaxis against COVID-19: Potential and Challenges. *Drug Discov Today*; 25; 1786-1792.

Chen, C. Y., Wang, F. L. & Lin, C. C. (2006). Chronic Hydroxychloroquine Use Associated with QT Prolongation and Refractory Ventricular Arrhythmia. *Clinical Toxicology*; 44; 173-175.

Chen, N., Zhou, M., Dong, X., Qu, J., Gong, F., Han, Y., Qiu, Y., Wang, J., Liu, Y., Wei, Y., Xia, J., Yu, T., Zhang, X. & Zhang, L. (2020). Epidemiological and Clinical Characteristics of 99 Cases of 2019 Novel Coronavirus Pneumonia in Wuhan, China: a Descriptive study. *Lancet*; 395; 507–513.

Du, X., Li, Y., Xia, Y. L., Ai, S. M., Liang, J., Sang, P., Ji, X. L. & Liu, S. Q. (2016). Insights into Protein-Ligand Interactions: Mechanisms, Models, and Methods. *International Journal of Molecular Sciences*; 17; 1-34.

Hui, D. S., Azhar, E., Madani, T. A., Ntoumi, F., Kock, R., Dar, O., Ippolito, G., Mchugh, T. D., Memish, Z. A., Drosten, C., Zumla, A. & Petersen, E. (2020). The Continuing 2019-nCoV Epidemic Threat of Novel Coronaviruses to Global Health - the Latest 2019 Novel Coronavirus Outbreak in Wuhan, China. *International Journal of Infectious Diseases*; 91; 264–266.

- Iheagwam, F. N., Rotimi, S. O. (2020). Computer-Aided Analysis of Multiple SARS-CoV-2 Therapeutic Targets: Identification of Potent Molecules from African Medicinal Plants. *Scientifica*; 2020; 1-25.
- Jain, A. N. & Nicholls, A. (2008). Recommendations for Evaluation of Computational Methods. *Journal of Computer-aided Molecular Design*; 22; 133-139.
- Jin, Z., Du, X., Xu, Y., Deng, Y., Liu, M., Zhao, Y., Zhang, B., Li, X. (2020). Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and Discovery of Its Inhibitors. *Nature*; 582; 289-293.
- Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R. & Bajorath, J. (2004). Docking and Scoring in Virtual Screening for Drug Discovery: Methods and Applications. *Nature Reviews. Drug Discovery*; 3; 935–949.
- Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S. & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *Journal of Computational Chemistry*; 30; 2785–2791.
- My, T., Loan, H. T. P., Hai, N. T. T., Hieu, L. T., Hoa, T. T., Thuy, B. T. P., Quang, D. T., Triet, N. T., Anh, T. T. V., Dieu, N. T. X., Trung, N. T., Hue, N. V., Tat, P. V., Tung, V. T. & Nhung, N. T. A. (2020). Evaluation of the Inhibitory Activities of COVID-19 of Melaleuca Cajuputi Oil Using Docking Simulation. *Chemistry Select*; 5; 6312-6320.
- Pillaiyar, T., Manickam, M., Namasivayam, V., Hayashi, Y. & Jung, S. (2016). An Overview of Severe Acute Respiratory Syndrome–Coronavirus (SARS-CoV) 3CL Protease Inhibitors: Peptidomimetics and Small Molecule Chemotherapy. *Journal of Medicinal Chemistry*; 59; 6595–6628.
- Prianto, B. (2008). Peran Kimia Komputasi dalam Mempelajari Mekanisme Reaksi Proses Elektrolisis NaCl Menjadi NaClO<sub>4</sub>. *Berita Dirgantara*; 9; 79-82.
- Sharma, P. & Shanavas, A. (2020). Natural Derivatives with Dual Binding Potential against SARS-CoV-2 Main Protease and Human ACE2 Possess Low Oral Bioavailability: A Brief Computational Analysis. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*; 39; 1–12.
- Sherman, W., Beard, H. S. & Farid, R. (2006). Use of an Induced Fit Receptor Structure in Virtual Screening. *Chemical Biology & Drug Design*; 67; 83-84.
- Sparrow A. (2020). How China’s Coronavirus Is Spreading-and How to Stop It. <https://foreignpolicy.com/2020/01/26/2019-ncov-china-epidemic-pandemic-the-wuhan-coronavirus-a-tentative-clinical-profile/>. Accessed: 20 Oktober 2020.
- Tahir, Q. M., Alqahtani, S. M., Alamri, M. A., et al. (2020). Structural Basis of SARS-CoV-2 3CLpro and Anti-COVID-19 Drug Discovery from Medicinal Plants. *Journal of Pharmaceutical Analysis*; .
- Tressler Hessen, M. (2020). Novel Coronavirus Information Center: Expert Guidance and Commentary. <https://www.elsevier.com/connect/coronavirus-information-center>. Accessed: 20 Oktober 2020.
- Tripathi, M. K., Singh, P., Sharma, S., Singh, T. J., Ethayathulla, A. S. & Kaur, P. (2020). Identification of Bioactive Molecules from *Withania somnifera* (Ashwagandha) as SARS-CoV-2 Main Protease Inhibitor. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*; 39; 1-14.
- Vardhan, S. & Sahoo, S. K. (2020). In Silico ADMET and Molecular Docking Study on Searching Potential Inhibitors from Limonoids and Triterpenoids for COVID-19. *Computers in Biology and Medicine*; 124; 1-12.
- Wan, Y., Shanga, J., Grahamb, R., Baricb, R. S. & Li, F. (2020). Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. *Journal of Virology*; 94; 1-9.
- Weiner, S. J., Kollman, P. A., Case, D. A., Singh, U. C., Ghio, C., Alagona, G., Profeta, S. & Weiner, W. (1984). A New Force Field for Molecular Mechanical Simulation of Nucleic Acids and Proteins. *Journal of the American Chemical Society*; 106; 765–784.
- WHO. (2020a). Clinical Management of Severe Acute Respiratory Infection (SARI) When COVID-19 Disease is Suspected. <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/clinical-management-of-novel-cov.pdf>. Accessed: 10 Oktober 2020.
- WHO. (2020b). Coronavirus Disease (COVID-19) Pandemic. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>. Accessed: 20 Oktober 2020.
- Wieder, M., Perricone, U., Seidel, T., Boesch, S. & Langer, T. (2016). Comparing Pharmacophore

Models Derived from Crsytal Structures and from Molecular Dynamics Simulations. *Monatshefte für Chemie*; 147; 553-563.

Wong, G., Bi, Y. B., Wang, Q. H., Chen, X. W., Zhang, Z. G. & Yao, Y. G. (2020). Zoonotic Origins of Human Coronavirus 2019 (HCoV-19/SARS-CoV-2): why is this work important?. *Zoological Research*, 41; 213–219.

Xu Z, Peng C, Shi Y., Zhu, Z., Mu, K., Wang, X. & Zhu, W. (2020). Nelfinavir was Predicted to be a Potential Inhibitor of 2019-nCov Main Protease by an Integrative Approach Combining Homology Modelling, Molecular Docking and Binding Free Energy Calculation. New York: BioRxiv.

## Molecular Docking of Compounds in *Moringa oleifera* Lam with Dipeptidyl Peptidase-4 Receptors as Antidiabetic Candidates

Indah Permata Rendi, Gabriella Josephine Maranata\*, Hasna Chaerunisa, Nurulita Nugrahaeni, Siti Sarah Alfathonah  
Department of Pharmaceutical Analysis and Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Padjadjaran University,  
Bandung, Indonesia

\*Corresponding author: gabriella17003@mail.unpad.ac.id

Submitted: 1 January 2021

Accepted: 16 June 2021

Published: 30 November 2021

### Abstract

**Background:** Diabetes mellitus (DM) type 2 is a metabolic disorder that needs special attention because it can damage several organs if the severity increases. One of the treatments for diabetes mellitus (DM) type 2 is by inhibiting Dipeptidyl peptidase 4 (DPP-IV) with vildagliptin to prolong the hypoglycemic effect of GLP-1 and GIP. **Objective:** In the search for candidate compounds as new antidiabetic compounds, an *in silico* test with molecular docking was carried out to predict the antidiabetic activity of 10 *Moringa oleifera* Lam (MO) plant compounds at the DPP-IV receptor (PDB ID: 6B1E). **Method:** The study was conducted using the molecular docking method. **Result:** Validation of the vildagliptin DPP-IV ligand obtained free energy values of -9.27 kcal/mol and RMSD 1.49 Å (RMSD < 2 Å), then tested with 10 test compounds obtained 8 test compounds that have the potential to be antidiabetic. **Conclusion:** Serpentine compounds have better potential as an antidiabetic drug than other target compounds because they have the closest Gibbs energy ( $\Delta G$ ) value to the natural ligand of Vildagliptin, which is -7.90 kcal/mol. This value is still lower than the free energy of vildagliptin, which is -9.37 kcal/mol. Therefore further testing is needed to ensure the potential of the compound as a candidate for antidiabetic drugs.

**Keywords:** diabetes, molecular docking, DPP4, *Moringa oleifera* Lam., vildagliptin

### Abstrak

**Pendahuluan:** Diabetes melitus (DM) tipe 2 merupakan penyakit gangguan metabolisme yang perlu mendapatkan perhatian khusus karena dapat merusak beberapa organ jika keparahan meningkat. Salah satu pengobatan DM tipe 2 dengan melakukan penghambatan Dipeptidyl peptidase 4 (DPP-IV) yaitu dengan vildagliptin sehingga dapat memperpanjang efek hipoglikemik GLP-1 dan GIP. **Tujuan:** Dalam pencarian kandidat senyawa sebagai antidiabetes baru, maka dilakukan uji *in silico* dengan penambahan molekuler untuk memprediksi aktivitas antidiabetes 10 senyawa tanaman *Moringa oleifera* Lam. (MO) pada reseptor DPP-IV (PDB ID: 6B1E). **Metode:** Penelitian dilakukan dengan metode docking molekuler. **Hasil:** Validasi ligan vildagliptin DPP-IV didapatkan nilai energi bebas -9,27 kkal/mol dan RMSD 1,49 Å (RMSD < 2 Å), kemudian dilakukan pengujian dengan 10 senyawa uji didapatkan 8 senyawa uji yang berpotensi sebagai antidiabetes. **Kesimpulan:** Senyawa serpentin memiliki potensi lebih baik sebagai kandidat obat antidiabetes dibandingkan senyawa target lainnya karena memiliki nilai energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) paling mendekati ligan alami Vildagliptin yaitu sebesar -7,90 kkal/mol. Nilai ini masih lebih rendah dibandingkan energi bebas vildagliptin yaitu -9,37 kkal/mol, oleh karena itu perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk memastikan potensi senyawa sebagai kandidat obat antidiabetes.

**Kata kunci:** diabetes, doking molekuler, DPP4, *Moringa oleifera* Lam., vildagliptin

## INTRODUCTION

Diabetes Mellitus (DM) is a metabolic disorder characterized by long-term high blood glucose levels.

This disease has become one of the main health problems in the world and needs special attention. Over time, DM can damage the heart, kidney, and nervous

system. DM was divided into two categories (type 1 and 2) based on patients' absolute or relative insulin deficiency. According to International Diabetes Federation (IDF), in 2019, nearly half a million people in the world, approximately 463 million people, were living with diabetes. If this problem persists, it is estimated that the number will continue to increase to 13.7 million in 2030 and 16.9 million in 2045 (IDF, 2019; Yang *et al.*, 2020).

Currently, it takes 10 - 15 years to develop new drugs, and this process costs much money (Dimasi *et al.*, 2016). Due to the lack of certain drug properties, such as poor pharmacokinetics and toxicity problems that appear in clinical trials, only one drug out of 10,000 candidates can eventually be marketed during the drug development process (Pink *et al.*, 2005). With the development of computer technology, structure-based virtual screening such as molecular docking has become one of the methods that can be used for drug discovery (Ma *et al.*, 2013). The advantage of this method is that candidate compounds that have low drug ability can be removed, lowering costs and increasing efficiency (Katsuno *et al.*, 2015).

Molecular docking analysis is a drug discovery technology based on simulating interactions between ligands and target proteins. The structural libraries of compounds from various sources were screened and analyzed by pharmacophore matching and molecular docking methods, based on the drug-binding site of the target protein (Meng *et al.*, 2011). Virtual drug screening based on molecular docking technology has become a popular and effective drug development strategy. Docking was developed to be a tool for drug discovery through an *in silico* approach.

Several medicinal plants have been used as therapeutic agents for various diseases. *Moringa oleifera* (MO) is a significant medicinal plant because it is traditionally used to treat various health disorders, including diabetes mellitus (DM) type 2 (Farooq *et al.*, 2012). MO has long been called the "Tree of Life" and "Magic Tree" in the tropics and subtropics because it can be used as a food and an essential traditional medicine in Asia to treat diabetes and obesity (Moyo *et al.*, 2011).

Currently, there are very few studies on the pharmacological activity of the chemical elements contained in MO and these studies this research is limited to the exploration of crude extract bioactivity. Somova *et al.* (2003) found that MO extract had antihypertensive and hypoglycemic activity. Most studies on the hypoglycemic activity of MO extracts have not identified individual components with specific

molecular mechanisms. Different parts of MO are enriched with carotenoids, alkaloids, flavonoids, glycosides, anthocyanins, anthraquinones, saponins, steroids, tannins and terpenoids (Patel *et al.*, 2014).

Zainab *et al.* (2020) have conducted an *in silico* study using molecular docking on 10 MO plant compounds, namely Anthraquinone, Laurifolin (flavonoid), Serpentine (alkaloid), 2-Phenylchromenylium anthocyanin, Alpha-Carotene, Sitoglucoside Glycoside, A-Phenolic Steroid, Saponin, Hemlock Tannins and terpenoids EA-I. The results show that 5 phytochemical compounds screened from MO plants are effective as potential therapeutic drug candidates to treat diabetes mellitus at the Crystal Structure of Insulin kinase receptors.

In this study, molecular docking was carried out to predict the antidiabetic activity of the 10 MO plant compounds with different receptors, namely the DPP-IV receptor. Based on drug-like properties and molecular docking evaluation principles, inhibition of DPP-IV was confirmed by *in vitro* experiments. DPP-IV, also called CD26, is a serine protease. As a treatment for type 2 diabetes, DPP-4 inhibitors inhibit the degradation of incretins, GLP-1 and GIP (Juillerat, 2013). There are DPP-IV inhibitors currently on the market, such as sitagliptin and vildagliptin. The DPP-IV inhibitors currently on the market have significant hypoglycemic effects (Makrilakis, 2019).

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

The materials in this molecular docking are the structure of the compounds contained in MO, namely Anthraquinone, Laurifolin (flavonoids), Serpentine (alkaloids), 2-Phenylchromenylium anthocyanins, Alpha-carotene, Sitoglucoside glycosides, A-Phenolic Steroids, Saponins, Hemlock tannins, and Terpenoid EA-I. The structures were made in 2D and 3D form using the ChemDraw Ultra 12 application. DPP-IV receptor downloaded from the Protein Data Bank (PDB) database with ID 6B1E.

### Tools

This study was performed using ASUS Windows 10 equipped with Intel® Core™ i3-4030U CPU @ 1.90 GHz, 64-bit operating system, 84.7 GB hard drive capacity, and 2.00 GB RAM memory. The software includes (1) Chemdraw® Ultra 12.0 free trial (Cambridge Soft Corporation, downloaded at [www.cambridgesoft.com](http://www.cambridgesoft.com)) used to draw ligand structures in 2D and 3D; (2) Autodock 4.2 (downloaded from <http://autodock.scrips.edu>); (3) BIOVIA



Discovery Studio 2016, used for visualization of protein data bank (PDB) complexes.

### Methods

This study was performed to find new antidiabetic potential drugs in MO plant compounds using the in silico method, namely molecular docking including preparation of target receptors, ligand preparation, molecular docking validation, and molecular docking (Muchtaridi *et al.*, 2017).

#### Preparation of target receptor

DPP-IV receptor was obtained from Protein Data Bank (PDB ID: 6B1E) with a resolution of 1.77 Å. The receptor was separated (using Discovery Studio) by removing the water molecules and the ligand molecules. The obtained protein molecule was saved in the receptor.pdb file format. The receptor that will be tested was prepared using the AutoDockTools application by adding a hydrogen group and increasing the Kollman charge. The receptor was saved in the receptor.pdbqt file format.

#### Ligand preparation

The ligands were separated (using Discovery Studio) by removing water molecules and protein molecules. The obtained ligand molecules were saved in the ligand.pdb file format. The ligands that will be tested were prepared using the AutoDockTools application by adding a hydrogen group, merging the non-polar group, and increasing the Gasteiger charge. Then, detect and select the root. After that, choose torsion and set the number of torsions. The ligands were saved in the ligand.pdbqt file format.

#### Validation of molecular docking

Grid parameters are used to define region boundaries in the molecular docking process, and the receptor's active site will be covered to improve docking efficiency. These parameters were created in the grid menu of AutoDockTools, and the file was saved in .gpf file format. The AutoGrid process ran these parameters, and the file was saved in glg format.

Docking parameters were created through the docking menu. Then, the receptor and ligand file were selected in pdbqt format. The Lamarckian parameter was added and the file was saved in dpf format.

The receptor.pdbqt file and ligand.pdbqt was inserted. Select the ligand, prepare the grid box (x: 36.602; y: 50.275; z: 35.416) and save in gpf format. Sets the receptor's rigid filename. The ligand and the parameters of the Genetic Algorithm were chosen. Make the number of GA runs 50. After choosing the docking parameters, the file was saved in dpf format using Lamarckian GA. The validation result of molecular

docking was interpreted as the Root Mean Square Deviation (RMSD) value.

#### Molecular docking

After obtaining the grid box parameters and RMSD values, molecular docking of the test ligands and target receptors was carried out in the same steps. The molecular docking results are the ligand's Gibbs energy ( $\Delta G$ ), the number of clusters, the inhibition constant (KI), and the interactions involved in the 2D and 3D forms by opening BIOVIA to see the bonds in the receptor and ligand.

### RESULT AND DISCUSSION

A total of 10 compounds are contained in the MO plant, namely, Anthraquinone, Laurifolin (flavonoid), Serpentine (alkaloid), 2-Phenylchromenylium anthocyanin, Alpha-carotene, Sitogluside glycoside, A-Phenolic Steroid, Saponin, Hemlock tannin, and Terpenoid EA-I were selected to in silico study its activity at the DPP-IV receptor. The DPP-IV receptor in complex with vildagliptin (PDB ID: 6B1E) was selected in the present study based on the already in the organism *Homo sapiens* and the method used is the x-ray diffraction method. The structure that has been made with this method has a resolution of 1.77 Å, which is a good value. The free R-value that is owned is 0.186, and the working R-value is 0.161. This value itself can be used as a factor in evaluating the quality of molecular crystals. The working R-value can also be used to measure the deviation between the intensity of the observed diffraction pattern and the intensity of the calculated model prediction. The R-value of good working is smaller than 0.20, and the DPP-IV receptor in the complex with vildagliptin has a smaller value than the requirement, so it can be said to be ideal.

The protein was downloaded using PDB as a database for data on the three-dimensional structure of large biological molecules, such as proteins and nucleic acids. DPP-IV is a proteolytic enzyme or protease found on the cell surface. DPP-IV inhibitor enzymes play a role in maintaining glucose balance by proteolytic inactivation of incretins so that this enzyme will improve glucose tolerance and pancreatic islet cell function in diabetic patients. One of the pathogenesises of DM is an increase in the activity of the DPP-IV enzyme, which results in impaired glucose metabolism in the body. Therefore, several drugs are designed with the mechanism of the DPP-IV inhibitory pathway to increase the signal on insulin secretion and restore normal glucose metabolism.

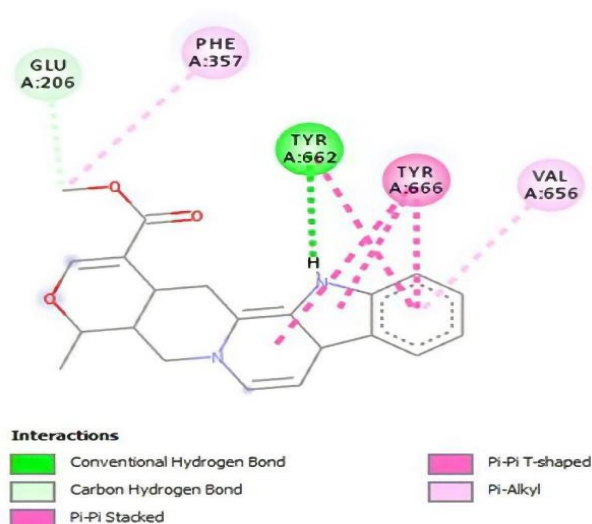
The initial step of receptor preparation was carried out using the software *BIOVIA Discovery Studio* to separate ligand and water molecules with receptors because water molecules can cause the molecular docking process to become more complex and allow hydrogen bonds to occur with compounds other than ligand. The results of this process are saved in the receptor .pdb file format. The next step is the preparation of the ligand with vildagliptin as the standard ligand. The ligands to be tested are Anthraquinone, Laurifolin (flavonoid), Serpentine, which belongs to the alkaloid group, 2-Phenylchromenylium anthocyanin, Alpha-carotene, Cytogluside glycoside, A-Phenolic Steroids, Saponins, Hemlock tannins, and Terpenoids EA-I. 2D structure modelled with software *Chemdraw Ultra* and optimized geometric design into 3D using software *Chem3D* then saved as a .pdb file. Ligand optimization is done by adding the charge *Gasteiger* using the software *Autodock Tools* and then merging nonpolar so that only the polar hydrogen atoms appear. Before the ligand is docked to the receptor, it is necessary to identify the active pocket binding to the receptor using the parameter *grid*.

Then, the validation process of the molecular docking method was carried out. Validation of computational methods is carried out to ensure that the method used has met the validity requirement so that it can be used for another molecular testing. In the docking process, the standard ligand separated from the receptor is redocking, namely vildagliptin and the test ligand with the DPP-IV receptor. The grid box (bond area) is determined to limit the search space for the ligand

conformation in the docking process. The resulting grid box is  $x = 36.602$ ;  $y = 50.275$ ;  $z = 35.416$ . The results of the validation follow the requirements of  $1.49 \text{ \AA}$  (RMSD requirements  $< 2 \text{ \AA}$ ) so that it can be said that the system is valid and ready for the next process.

Parameters used to see the interaction of the test compound with the receptor include Gibbs free energy, inhibition constant, and the interaction between the ligand and receptor complex. The test results are used as a standard to determine which compounds have similar activity at the DPP IV receptor.

Molecular docking between the standard ligand vildagliptin and the DPP-IV receptor resulted in a Gibbs free energy of  $-9.37 \text{ kcal/mol}$  with an inhibition constant of  $135.65 \text{ uM}$  (Table 1). Based on the test results on ten compounds in the MO plant, the serpentine compound (Figure 1) has a Gibbs energy value of  $-7.90 \text{ kcal/mol}$  with a constant inhibition value of  $1.61 \text{ uM}$ . This value is indeed not more damaging than vildagliptin but better than other compounds. It is known that the more negative the Gibbs free energy value ( $\Delta G$ ) indicates a good level of stability between the ligand and the receptor so that it will form a stronger bond (Du *et al.*, 2016). In addition, the value of the inhibition constant is also directly proportional to the Gibbs energy; the smaller the case, the smaller the inhibition constant, which indicates the bond interaction between the ligand and receptor is getting stronger (Du *et al.*, 2016; Brooks *et al.*, 2009). The value of the inhibition constant shows the concentration required for a ligand to affect the receptor (Cortés *et al.*, 2001; dos Reis *et al.*, 2013).



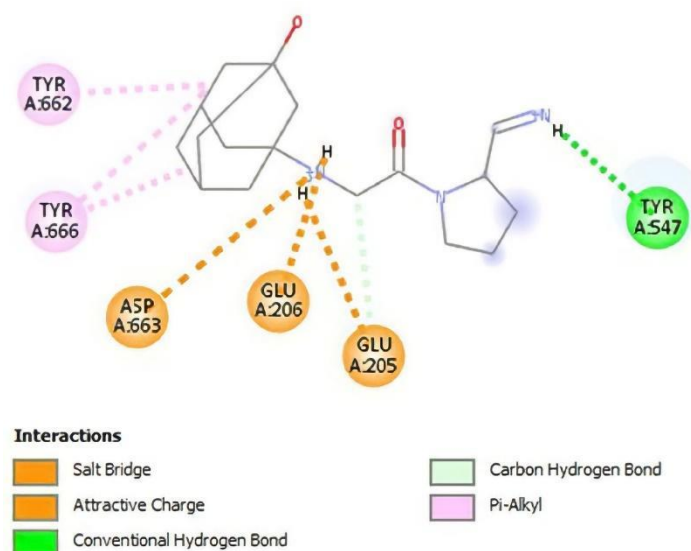
**Figure 1.** Interaction between serpentin and DPP4

**Table 1.** Parameters of molecular docking of the test compound with the DPP4 enzyme

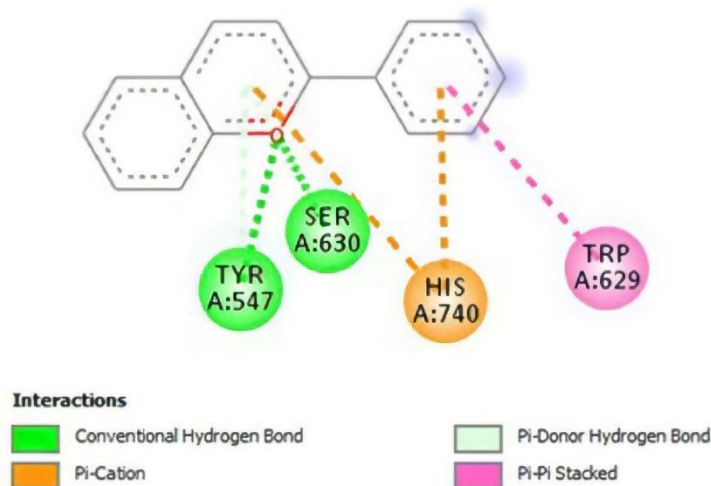
| No. | Compound                         | Free energy (kcal/mol) | Inhibition constant (uM) | Interaction with Amino Acid |  |
|-----|----------------------------------|------------------------|--------------------------|-----------------------------|--|
|     |                                  |                        |                          | Hydrogen bond               | Hydrophobic bond   |
| 1.  | Vildagliptin                     | -9.37                  | 135.65                   | Tyr547                      | Glu205, Glu206, Asp663, Tyr666, Tyr662   |
| 2.  | Serpentine                       | -7,90                  | 1,61                     | Tyr662                      | Tyr666, Glu206, Val656, Phe357   |
| 3.  | A-phenolic steroid               | -6,67                  | 12,97                    | Ser630                      | Phe 357, Tyr666  |
| 4.  | 2-Phenylchromenylium Anthocyanin | -6,44                  | 19,12                    | Ser 630, Tyr547             | His740, Trp629   |
| 5.  | Antraquinone                     | -6,35                  | 22,12                    | Tyr666, Tyr 662, Asn 710    | Glu206   |
| 6.  | Hemlock tannin                   | -6,31                  | 23,89                    | Glu205, Tyr662              | Phe357, His740, Arg125, Tyr666, Val711, Phe357, Val656, Tyr631, Tyr662, Phe357 |
| 7.  | Terpenoid EA-I                   | -6,12                  | 32,91                    |                             | Glu206, Phe357, Tyr547   |
| 8.  | Laurifolin                       | -5,56                  | 84,15                    | Ser630                      | Glu 206, His740, Tyr666, Tyr662  |
| 9.  | Sitogluside glycoside            | -5,18                  | 159,26                   | Arg125, Glu205, His126      | Tyr 666, Tyr662  |
| 10. | Saponin                          | +1178.77               | unavailable              | -                           | -  |
| 11. | Alpha-carotene                   | +214551.80             | unavailable              | -                           | -  |

Then, the visualisation results to see the presence of residues that bind between the standard ligand vildagliptin and the DPP-IV receptor, hydrogen bond interactions occur in Tyr547 and hydrophobic bonds interactions Glu205, Glu206, Asp663, Tyr666, and Tyr662 (Figure 2). Based on the hydrogen bonds formed in the 10 test compounds, 2-Phenylchromenylium Anthocyanin has a good affinity for the DPP-IV receptor

on the amino acid residue Tyr547. This result is consistent with the hydrogen bonding interaction with the standard ligand vildagliptin on the amino acid residue Tyr547 (Figure 3). An interaction occurs at the same amino acid residue so that 2-Phenylchromenylium Anthocyanin is predicted to have similar biological activity to vildagliptin (Muttakin, 2019).



**Figure 2.** Interaction between vildagliptin and DPP4



**Figure 3.** Interaction between 2-phenylchromenylium anthocyanin and DPP4

Hydrogen bonding contributes to the affinity of a molecule for the target protein, thereby forming electrostatic interaction (hydrogen donor and acceptor) (Murray, 2003; Bissantz *et al.*, 2010). The number of hydrogen bond donors and acceptors indicates that the higher the hydrogen bonding capacity, the higher the energy required for the absorption process to occur (Syahputra *et al.*, 2011).

The value of Gibbs free energy between the ligand-receptors is not only influenced by the presence of hydrogen bonds but is also influenced by several factors such as hydrophobic and electrostatic interactions. Hydrophobic interactions are interactions that occur between nonpolar groups. This bond is an essential bond in the process of combining the nonpolar region of the drug molecule with the nonpolar region of the biologic receptor, where the nonpolar part of the drug molecule that is unable to dissolve in water will combine with the surrounding water molecules through hydrophobic bonds form a quasi-crystalline structure. This hydrophobic bond also has a significant role in determining the binding strength between protein and ligand (Bharathi *et al.*, 2014; Chakraborty *et al.*, 2014).

It is known from the results of molecular docking that serpentine compounds have Gibbs free energy ( $\Delta G$ ), which is closest to natural ligand compounds of vildagliptin. This condition can be influenced because there are two residues in the hydrophobic interaction between serpentine and vildagliptin, namely Tyr666 and Glu206 residues, while the 2-Phenylchromenylium Anthocyanin compound does not have the same residue as vildagliptin in hydrophobic interactions. The interaction of the amino acid residues involved can allow for contact between the ligand and the DPP-IV receptor to have inhibitory activity.

By comparing the results of the interactions that occur and the Gibbs free energy value ( $\Delta G$ ) of vildagliptin with 10 test compounds, serpentine compounds have the greatest potential as antidiabetic drug candidates compared to other test compounds because they have the Gibbs free energy ( $\Delta G$ ) which is closest to the energy free of Gibbs ( $\Delta G$ ) vildagliptin. However, further tests are needed to ensure that these compounds have the most potential candidates for antidiabetic drugs, such as *in vitro*, *in vivo*, and clinical trials.

## CONCLUSION

The compound contained in *Moringa oleifera* (MO), namely serpentine has better potential as an antidiabetic drug candidate when compared to other target compounds because it has a Gibbs free energy value ( $\Delta G$ ) which is closest to the natural ligand of Vildagliptin, which is  $-7.90$  kcal/mol. This value is still lower than vildagliptin, which is  $-9.37$  kcal/mol. Therefore, it is necessary to conduct further experiments to ensure that these compounds have the most potential as candidates for antidiabetic drugs, such as *in vitro*, *in vivo*, and clinical trials.

## ACKNOWLEDGEMENT

This research is part of the Department of Pharmaceutical Analysis and Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Padjadjaran University. Thanks are given to Prof. apt. Muchtaridi, Ph.D. and Dr. apt. Sandra Megantara, M.Farm. from Padjadjaran University who has guided this research.

## REFERENCES

- Bharathi, A., Roopan, S. M., Vasavi, C. S., Munusami, P., Gayathri, G. A. & Gayathri, M. (2014). In Silico Molecular Docking and In Vitro Antidiabetic Studies of Dihydropyrimido [4,5-a]acridin-2-amines. *BioMed Research International*; 2014; 1–10.
- Bissantz, C., Kuhn, B. & Stahl, M. (2010). A Medicinal Chemist's Guide to Molecular Interactions. *Journal of Medicinal Chemistry*; 53; 5061–5084.
- Brooks, B. R., Brooks, C. L., Mackerell, A. D., Nilsson, L., Petrella, R. J., Roux, B., Won, Y., Archontis, G., Bartels, C., Boresch, S., Caflich, A., Caves, L., Cui, Q., Dinner, A. R., Feig, M., Fischer, S., Gao, J., Hodoscek, M., Im, W. & Karplus, M. (2009). *Journal of Computational Chemistry*; 30; 1545-1614.
- Chakraborty, C., Hsu, M. J. & Agoramoorthy, G. (2014). Understanding the Molecular Dynamics of Type-2 Diabetes Drug Target DPP-4 and its Interaction with Sitagliptin and Inhibitor Diprotin-A. *Cell Biochemistry and Biophysics*; 70; 907-922.
- Cortés, A., Cascante, M., Cárdenas, M. L. & Cornish-Bowden, A. (2001). Relationships Between Inhibition Constants, Inhibitor Concentrations for 50% Inhibition and Types of Inhibition: New Ways of Analysing Data. *Biochemical Journal*; 357; 263- 268.
- Dimasi J. A., Grabowski H. G. & Hansen R.W. (2016). Innovation in the Pharmaceutical Industry: New Estimates of R&D costs. *Journal of Health Economics*; 47; 20–33.
- Dos Reis, M. B. G., Manjolin, L. C., Maquiaveli, C. D. C., Santos-Filho, O. A. & Da Silva, E. R. (2013). Inhibition of Leishmania (Leishmania) Amazonensis and Rat Arginases by Green Tea EGCG, (+)-Catechin and (-)-Epicatechin: a Comparative Structural Analysis of Enzyme-Inhibitor Interactions. *PloS one*; 8; e78387-e78387.
- Du, X., Li, Y., Xia, Y. -L., Ai, S. -M., Liang, J., Sang, P., Ji, X. -L. & Liu, S. -Q. (2016). Insights Into Protein–Ligand Interactions: Mechanisms, Models, and Methods. *International Journal of Molecular Sciences*; 17; 1-34.
- Farooq, F., Rai, M., Tiwari, A., Khan, A. A. & Farooq, S. (2012). Medicinal Properties of *Moringa oleifera*: An Overview of Promising Healer. *Journal of Medicinal Plants Research*; 6; 4368–4374.
- IDF. (2019). Diabetes Atlas Edisi 9. Brussels: International Diabetes Federation.
- Juillerat, J. L. (2013). Dipeptidyl Peptidase IV and Its Inhibitors: Therapeutics for Type 2 Diabetes and What Else? *Journal of Medicinal Chemistry*; 57; 2197–2212.
- Karaman, B., Alhalabi, Z., Swyter, S., Mihigo, S., Andrae-Marobela, K., Jung, M., Sippl W. & Ntie-Kang F. (2018). Identification of Bichalcones as Sirtuin Inhibitors by Virtual Screening and In Vitro Testing. *Molecules*; 23; 1-10.
- Katsuno, K., Burrows J. N., Duncan, K., Van, H. R. H., Kaneko, T., Kita, K., Mowbray, C. E., Schmatz, D., Warner, P. & Slingsby B. (2015). Hit and Lead Criteria in Drug Discovery for Infectious Diseases of the Developing World. *Nature Reviews Drug Discovery*; 14; 751–758.
- Ma, D. -L., Chan, D. S. -H., Leung C.-H. (2013). Drug Repositioning by Structure-Based Virtual Screening. *Chemical Society Reviews*; 42; 2130–2141.
- Makrilakis, K. (2019). The Role of DPP-4 Inhibitors in the Treatment Algorithm of Type 2 Diabetes Mellitus: When to Select, What to Expect. *International Journal of Environmental Research and Public Health*; 16; 1-20.
- Meng, X. -Y., Zhang H. -X., Mezei, M. & Cui, M. (2011). Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*; 7; 146–157.
- Moyo, B., Masika, P. J., Hugo, A., Muchenje, V. (2011). Nutritional Characterization of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) Leaves. *Food Chemistry*; 10; 12925–12933.
- Muchtaridi, M., Syahidah, H. N., Subarnas, A., dkk. (2017). Molecular Docking and 3D-Pharmacophore Modeling to Study the Interactions of Chalcone Derivatives with Estrogen Receptor Alpha. *Pharmaceuticals*; 10; 1-12.
- Murray, R. K. (2003). Harpers Biochemistry. USA: Prentice Hall International INC.
- Muttaqin, F. Z. (2019). Molecular Docking and Molecular Dynamic Studies if Stilbene Derivative Compounds as Sirtuin-3 (SIRT3) Histone Deacetylase Inhibitor on Melanoma Skin Cancer and Their Toxicities Prediction. *Journal of Pharmacopolium*; 2; 112-121.
- Patel, P., Patel, N., Patel, D., Desai, S. & Meshram, D. (2014). Phytochemical Analysis and Antifungal

- Activity of *Moringa oleifera*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*; 6; 144–147.
- Pink, R., Hudson A., Mouriès M. -A. & Bendig, M. (2005). Opportunities and Challenges in Antiparasitic Drug Discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*; 4; 727–740.
- Somova, L. I., Shode, F. O., Ramnanan, P. & Nadar, A., (2003). Antihypertensive, Antiatherosclerotic and Antioxidant Activity of Triterpenoids Isolated from *Olea europaea*, Subspecies Africana Leaves. *Journal of Ethnopharmacology*; 84; 299-305.
- Syahputra, G., Ambasari, L. & Sumaryada, T. (2011). Simulasi Docking Kukurmin Enol, Bisdemetoksikurkumin dan Analognya sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*; 10; 55-67.
- Yang, Y., Shi, C. -Y., Xie, J., Dai, J. -H., He, S. -L. & Tian, Y. (2020). Identification of Potential Dipeptidyl Peptidase (DPP)-IV Inhibitors among *Moringa oleifera* Phytochemicals by Virtual Screening, Molecular Docking Analysis, ADME/T-Based Prediction, and In Vitro Analyses. *Molecules*; 25; 1-12.
- Zainab, B., Ayaz, Z., Alwahibi, M. S., Khan, S., Rizwana, H., Soliman, D. W., Alawaad, A. & Mehmood, A. A. (2020). In-silico Elucidation of *Moringa oleifera* Phytochemicals against Diabetes Mellitus. *Saudi Journal of Biological Sciences*; 27; 2299–2307.

## Pengetahuan dan Ketepatan Apoteker dalam Pemusnahan Obat Sisa, Obat Rusak dan Obat Kedaluarsa

### *Pharmacists' Knowledge and Appropriate Disposal of Unused, Deteriorated and Expired Drugs*

Hananditia Rachma Pramestutie\*, Ratna Kurnia Illahi, Ayuk Lawuningtyas Hariadini, Tamara Gusti Ebtavanny, Malyda Savira

Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

\*Corresponding author: hananditia@ub.ac.id

Submitted: 14 January 2021

Accepted: 28 June 2021

Published: 30 November 2021

#### **Abstract**

**Background:** Improper drug disposal could cause environmental damage and clinical harm to the community. Pharmacists are expected to have appropriate knowledge in performing drug disposal and be able to give counselling about drug disposal to the patients to minimize the harmful effect. **Objective:** This study aimed to determine the correlation between Malang Raya pharmacists' knowledge and appropriate disposal of unused, damaged, and expired drugs. **Methods:** This study was an observational analytic study with a cross-sectional design. The subjects were 106 pharmacists who worked in Malang Raya Pharmacies and were selected by using convenience sampling. The instruments used were questionnaires to measure the level of knowledge and correct drug disposal that had been tested for validity and reliability. The correlation test used in this study was the Rank Spearman test. **Results:** Based on the results from 106 respondents, 59% of respondents had "good" knowledge, and 10% of respondents had a "proper" level of disposing of unused, damaged and expired drugs. The Rank Spearman correlation test showed that the correlation between both was not significant ( $p = 0.522$ ). **Conclusion:** Though many respondents had good knowledge of drug disposal, most of them did not do it properly. Therefore, it can be concluded that there was no significant correlation between pharmacists' knowledge and appropriate disposal of unused, damaged, and expired drugs.

**Keywords:** knowledge, appropriateness, pharmacist, disposal drugs

#### **Abstrak**

**Pendahuluan:** Apoteker mempunyai peranan dalam pemusnahan obat diantaranya adalah melakukan pemusnahan obat dengan tepat di pelayanan kefarmasian dan mengedukasi masyarakat terkait dengan pemusnahan obat yang benar. Pemusnahan obat yang dilakukan dengan metode yang tidak tepat dapat menimbulkan kerusakan lingkungan serta kerugian klinis bagi masyarakat. Apoteker diharapkan memiliki pengetahuan yang baik dan tepat dalam melakukan pemusnahan obat dan mengedukasi masyarakat terkait pemusnahan obat. **Tujuan:** Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan antara tingkat pengetahuan apoteker dengan ketepatan pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kedaluarsa di apotek Malang Raya. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan rancangan *cross-sectional*. Sampel penelitian adalah Apoteker di Apotek Malang Raya yang dipilih dengan menggunakan tehnik *convenient sampling*. Sampel yang digunakan yakni sebanyak 106 responden. Terdapat 2 macam kuesioner yaitu kuesioner pengetahuan dan ketepatan Apoteker dalam memusnahkan obat sisa, obat rusak dan obat kadularsa yang digunakan dalam penelitian ini. Uji korelasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji *Rank Spearman*. **Hasil:** Dari 106 responden, 59% responden memiliki kategori tingkat pengetahuan "baik" dan 10% responden dikatakan "tepat" dalam pemusnahan obat. Dari uji korelasi diketahui bahwa tidak terdapat hubungan signifikan antara tingkat pengetahuan dan ketepatan Apoteker dalam pemusnahan obat ( $p = 0,522$ ). **Kesimpulan:** Sebagian besar apoteker yang berpraktik di apotek wilayah Malang Raya memiliki pengetahuan baik mengenai pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kedaluarsa. Meskipun demikian, sebagian besar apoteker masih tidak tepat dalam memusnahkan obat sisa, rusak, dan

kedaluwarsa, sehingga hasil uji korelasi antara pengetahuan dan ketepatan tersebut tidak berhubungan secara signifikan.

**Kata kunci:** pengetahuan, ketepatan, apoteker, pemusnahan obat

## PENDAHULUAN

Obat rusak, obat sisa dengan kondisi tidak baik, dan obat kedaluwarsa yang tidak dimusnahkan dengan metode yang tepat dapat menyebabkan terjadinya kerusakan lingkungan serta kerugian klinis berupa timbulnya efek samping akibat menggunakan obat-obatan yang sudah tidak layak pakai tersebut. Dimana, efek samping yang mungkin timbul adalah hilangnya efikasi, keamanan, dan potensi obat serta dapat menyebabkan terbentuknya zat-zat baru yang berbahaya (Al-Shareef dkk., 2016, Gul dkk., 2016). Pada sediaan obat cair yang mengandung pengawet, ketika telah memasuki tanggal kedaluwarsa maka bahan pengawet tersebut tidak dapat bekerja secara optimal sehingga zat-zat kimia akan mengalami kerusakan dan akan terbentuk produk baru yang dapat menyebabkan gangguan pada organ tubuh hingga menyebabkan kematian (Sarla, 2020).

Pemusnahan obat dengan cara yang tidak tepat dapat menyebabkan banyak masalah bagi masyarakat dan lingkungan yaitu dapat menyebabkan kontaminasi air bersih dan tanah (Dar dkk., 2019). Sebuah studi menunjukkan penemuan antibiotik ciprofloxacin dengan konsentrasi 269 ng/L dan kokain dengan konsentrasi 57 ng/L dalam satu lahan, dan albuterol serta penisilin dengan konsentrasi rendah pada lahan lain yang tidak disebutkan lokasinya oleh *Department of Environmental Protection* (DEP), Maine (Daughton, 2010). Hal ini disebabkan karena masyarakat sekitar banyak membuang obat dengan tidak tepat. Studi lainnya yang menyebarkan kuesioner kepada apoteker pengelola apotek di New Zealand terkait pemusnahan obat sisa dan kedaluwarsa di tempat praktiknya memperoleh hasil 80,4% dan 61,1% dari 265 responden secara berurutan melaporkan bahwa obat berbentuk padat dan semi padat dimusnahkan melalui pihak ketiga. Untuk obat berbentuk cair serta golongan narkotika dan psikotropika (*class B controlled drugs*) utamanya dimusnahkan melalui saluran pembuangan air di apotek. Padahal metode pemusnahan ini potensial meningkatkan polusi sehingga sangat diperlukan kesadaran apoteker di New Zealand terhadap lingkungan. > 60% apoteker dapat memastikan bahwa pihak ketiga memusnahkan obat-obatan tersebut menggunakan insinerator dan > 90% apoteker

menyatakan harapan terhadap sistem pemusnahan obat yang dikelola Pemerintah (Tong dkk. 2011).

Seorang apoteker berada pada garis terdepan dalam menangani permasalahan pembuangan atau pemusnahan obat di pelayanan kefarmasian serta berperan dalam mengedukasi masyarakat mengenai pemusnahan obat-obatan yang tepat (Albaroodi, 2019). Apoteker harus memiliki pengetahuan yang baik mengenai cara pemusnahan obat yang ada di sarana pelayanan kefarmasian. Cara untuk memusnahkan obat di sarana pelayanan kefarmasian adalah obat tersebut dimusnahkan sesuai dengan jenis dan bentuk sediaan. Pemusnahan obat kedaluwarsa dan rusak yang mengandung narkotika dan psikotropika dilakukan oleh Apoteker dan disaksikan oleh Dinkes Kabupaten/Kota. Sedangkan untuk obat selain narkotika dan psikotropika dilakukan oleh Apoteker dan disaksikan oleh tenaga kefarmasian lain yang mempunyai surat izin praktik dan surat izin kerja (Anonim, 2019). Pemusnahan obat harus dilakukan dengan tepat agar tidak menimbulkan limbah farmasi dengan potensi yang membahayakan bagi kesehatan dan lingkungan. Permasalahan limbah yang ditimbulkan dari limbah farmasi ini menjadi tantangan bagi setiap fasilitas pelayanan kesehatan yang ada (Nuryeti & Ilyas, 2018).

Apoteker dapat membantu mengurangi pencemaran lingkungan akibat limbah sediaan farmasi dengan menjelaskan pada masyarakat terkait DAGUSIBU (Dapatkan Gunakan Simpan Buang) obat. DAGUSIBU merupakan suatu program yang digagas oleh Ikatan Apoteker Indonesia (IAI) meliputi kegiatan pemberian pemahaman dan keterampilan kepada masyarakat agar memperlakukan obat dengan baik mulai dari cara mendapatkan sampai dengan cara membuang obat (IAI, 2014). Apoteker perlu melakukan konseling terkait pengelolaan obat termasuk pemusnahan obat kepada masyarakat. Dalam menyampaikan konseling terkait pemusnahan obat, diperlukan pengetahuan yang cukup untuk mencapai ketepatan. Selain itu Apoteker diharapkan memiliki pengetahuan yang baik dan tepat dalam melakukan pemusnahan obat di pelayanan kefarmasian (Radhakrishna & Nagarajan, 2015). Sebuah studi mengenai pemusnahan obat sisa oleh apoteker pengelola apotek di Anambra State, Nigeria Tenggara memperoleh hasil bahwa seluruh kepala



negara bagian yang berpartisipasi dalam wawancara informan kunci mendukung memasukkan materi pengelolaan limbah dalam kurikulum pendidikan farmasi. Mereka berpendapat bahwa intervensi terhadap bidang pendidikan akan menghasilkan praktik pemusnahan obat yang lebih baik sehingga meningkatkan keamanan lingkungan. Tantangan terbesar terhadap praktik pemusnahan obat ini adalah pengetahuan dan kesadaran apoteker yang rendah terhadap pengelolaan obat kedaluwarsa, keterbatasan dokumentasi terkait isu ini, sanksi hukum yang belum jelas, serta protokol pengembalian obat kedaluwarsa kepada BPOM setempat (Michael dkk., 2019).

Berdasarkan pendahuluan yang diuraikan di atas, peneliti menganggap perlu dilakukan penelitian ini dengan tujuan untuk mengetahui hubungan antara tingkat pengetahuan dan ketepatan Apoteker dalam pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kedaluwarsa di apotek Malang Raya. Jumlah Apoteker di Malang Raya yang berpraktek di Apotek cukup banyak sehingga resiko terjadi kesalahan dalam pemusnahan menjadi besar. Hasil penelitian ini dapat dijadikan oleh Apoteker yang berpraktek di Apotek dalam meningkatkan pengetahuannya terkait pemusnahan obat di Apotek maupun dalam hal memberikan edukasi yang tepat ke masyarakat terkait dengan pemusnahan obat.

## BAHAN DAN METODE

### Desain penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan rancangan *cross sectional*. Pengumpulan sampel penelitian dilakukan dengan tehnik *purposive sampling* terhadap Apoteker yang berpraktek di Apotek Malang Raya selama periode Mei – Juni 2020.

### Populasi dan sampel penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh Apoteker yang bekerja di Apotek di wilayah Malang Raya (Kota Malang, Kabupaten Malang dan Kota Batu). Sampel dalam penelitian ini adalah Apoteker yang bekerja di Apotek di wilayah Malang Raya. Kriteria responden dalam penelitian ini adalah Apoteker yang bekerja di Apotek di wilayah Malang Raya, Apoteker yang bersedia menjadi responden penelitian dan mengisi kuesioner penelitian. Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah *convenient sampling*. Penentuan besar sampel dalam penelitian ini dengan menggunakan rumus besar sampel slovin yaitu:

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

dengan N berasal dari jumlah populasi Apoteker yang berpraktek di Apotek wilayah Malang Raya (N = 356) sedangkan nilai e (batas toleransi kesalahan atau nilai kritis) menggunakan nilai 10%. Dari hasil perhitungan sampel didapatkan jumlah minimal sampel yaitu sebesar 78 responden.

### Instrumen penelitian

Pada penelitian ini menggunakan 2 macam instrumen penelitian yaitu kuesioner pengetahuan dan kuesioner ketepatan Apoteker terkait pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kedaluwarsa yang telah disusun dan dikembangkan oleh peneliti. Pembuatan kedua kuesioner ini merujuk pada pustaka terkait dengan penyimpanan dan pembuangan obat yang benar yaitu merujuk pada cara cerdas penggunaan obat yang diterbitkan oleh Kemestrian Kesehatan Indonesia, Peraturan BPOM tahun 2018 No 4 tentang Pengawasan Pengelolaan Obat Bahan Obat, Narkotika, Psikotropika dan Prekursor Farmasi di Fasilitas Pelayanan Kefarmasian, US Pharmacopeia dan *guidelines for drug disposal* yang dikeluarkan oleh FDA (Food and Drug Administration, 2013; Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017; Badan Pengawasan Obat dan Makanan, 2018; Pharmacopeia, 2019).

Kedua instrumen tersebut telah diuji validitas dan reliabilitas. Uji validitas reliabilitas dilakukan pada 30 responden non sampel. Untuk mengukur validitas instrumen penelitian digunakan *pearson product moment* sedangkan untuk mengukur reliabilitas instrumen dengan menggunakan koefisien reliabilitas *alpha cronbach*. Hasil uji validitas dari kuesioner ini adalah 9 pertanyaan pada kuesioner pengetahuan Apoteker tentang pemusnahan obat sisa, obat rusak, dan obat kedaluwarsa di Apotek Malang Raya dan 6 pertanyaan ketepatan Apoteker dalam memusnahkan obat sisa, obat rusak dan obat kedaluwarsa di Apotek Malang Raya dinyatakan valid dengan nilai korelasi Pearson (*pearson correlation*) adalah positif, dan nilai probabilitas korelasi [*sig. (2-tailed)*] ≤ taraf signifikan ( $\alpha$ ) 0,05. Hasil uji reliabilitas pada kuesioner ini adalah 9 pertanyaan pada kuesioner pengetahuan Apoteker tentang pemusnahan obat sisa, obat rusak, dan obat kedaluwarsa di Apotek Malang Raya dinyatakan reliabel dengan nilai *cronbach's alfa* 0,764 dan 6 pertanyaan ketepatan Apoteker dalam memusnahkan obat sisa, obat rusak dan obat kedaluwarsa di Apotek Malang Raya dinyatakan reliabel dengan nilai *cronbach's alfa* 0,617.

Kuesioner pengetahuan Apoteker terkait pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kedaluwarsa yang digunakan berupa pertanyaan *close ended* yang

terdiri dari 9 pertanyaan yang berisi tentang batasan dan cara pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kadaluarsa. Penilaian kuesioner ini yakni skor 1 untuk jawaban benar dan skor 0 untuk jawaban salah. Kuesioner ketepatan Apoteker terkait pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kadaluarsa yang digunakan berupa pertanyaan *close ended* yang terdiri dari 6 pertanyaan yang berisi tentang pemusnahan obat di Apotek dan cara Apoteker menjelaskan pemusnahan pada pasien. Penilaian kuesioner ini yakni skor 1 untuk jawaban benar dan skor 0 untuk jawaban salah. Pada kuesioner ini juga terdapat data sosiodemografi (usia, jenis kelamin, pendidikan, pekerjaan dan penghasilan).

**Analisis data**

Tingkat pengetahuan Apoteker terkait pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kadaluarsa diketahui dengan menggunakan total skor dari kuesioner pengetahuan Apoteker apoteker terkait pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kadaluarsa. Untuk penilaian kuesioner skor 1 untuk jawaban benar dan skor 0 untuk jawaban salah. Total skor dikonversikan dalam bentuk presentase (%) dengan menggunakan rumus:

$$P = \frac{F}{N} \times 100\%$$

Keterangan:

P : Nilai persentase

F : Jumlah jawaban benar

N : Jumlah pertanyaan

Hasil yang diperoleh dapat dikategorikan dalam tingkat pengetahuan yaitu skor 76 - 100% dengan kategori baik, skor 56 - 75% dengan kategori cukup dan skor < 56% dengan kategori kurang.

Ketepatan Apoteker terkait pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kadaluarsa diketahui dengan menggunakan total skor dari kuesioner ketepatan Apoteker terkait pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kadaluarsa. Penilaian kuesioner ketepatan Apoteker diperoleh berdasarkan kriteria dari ketepatan pemusnahan obat yang tercantum dalam Peraturan BPOM No. 4 Tahun 2018 dan Panduan Pemusnahan obat oleh WHO (BPOM, 2018, WHO, 2017). Kuesioner ini memiliki 6 pernyataan maka dikatakan tepat apabila skor 6 dan tidak tepat apabila skor yang didapatkan kurang dari 6.

Setelah dilakukan analisis data pengetahuan Apoteker terkait pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kadaluarsa (yang dikategorikan menjadi baik, cukup dan kurang) dan ketepatan Apoteker pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kadaluarsa (yang dikategorikan menjadi tepat dan tidak tepat), dilakukan uji untuk menganalisis hubungan pengetahuan dan

ketepatan Apoteker dalam pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kadaluarsa dengan menggunakan uji *Rank Spearman*. Sebelum dilakukan uji korelasi, dilakukan uji normalitas untuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak dengan menggunakan uji *one sample Kolmogorov-Smirnov*.

**Persetujuan etik**

Penelitian ini telah dinyatakan laik etik oleh Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan nomor surat 114/EC/KEPK/06/2020. *Inform consent* diberikan kepada responden sebelum terlibat dalam penelitian ini.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penelitian ini dilakukan dengan melibatkan 106 apoteker yang bekerja di Apotek Malang Raya (54 responden Apoteker yang bekerja di Apotek Kota Malang, 49 responden Apoteker yang bekerja di Kabupaten Malang dan 3 responden Apoteker yang bekerja di Kota Batu). Pada penelitian ini didapatkan data karakteristik demografi dari responden yang ditunjukkan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Data demografi responden

| Demografi                       | n (%)     |
|---------------------------------|-----------|
| <b>Jenis Kelamin</b>            |           |
| Laki-laki                       | 17 (16)   |
| Perempuan                       | 89 (84)   |
| <b>Usia (tahun)</b>             |           |
| 17 - 25                         | 11 (10,4) |
| 26 - 35                         | 56 (52,8) |
| 36 - 45                         | 23 (21,7) |
| 46 - 55                         | 14 (13,3) |
| 56 - 65                         | 1 (0,9)   |
| 66 - 75                         | 1 (0,9)   |
| <b>Jabatan</b>                  |           |
| Apoteker Pengelola Apotek (APA) | 100 (94)  |
| Apoteker Pendamping             | 6 (6)     |
| <b>Pendidikan Terakhir</b>      |           |
| Apoteker                        | 96 (91)   |
| Strata 2                        | 10 (9)    |
| <b>Masa Kerja</b>               |           |
| < 12 bulan                      | 15 (14,2) |
| 1 - 5 tahun                     | 51 (48,1) |
| 6 - 10 tahun                    | 19 (17,0) |
| > 10 tahun                      | 21 (19,8) |
| <b>Jam Kerja</b>                |           |
| ≤ 5 jam/hari                    | 49 (46,2) |
| 6 - 10 jam/hari                 | 52 (49,1) |
| 11 - 15 jam/hari                | 5 (4,7)   |

Pada tabel data demografi responden (Tabel 1) diperoleh data mayoritas jenis kelamin responden adalah perempuan (84%). Sementara itu, sebagian besar responden pada penelitian ini berada pada rentang usia

26 - 35 tahun yang tergolong usia produktif yaitu sebesar 51,88%. Seseorang memiliki kemampuan kognitif yang baik ketika memasuki usia produktif yaitu pada rentang 26 - 35 tahun. Daya tangkap dan pola pikir seseorang mungkin dapat dipengaruhi oleh usia. Sehingga, semakin bertambahnya usia seorang apoteker, akan semakin berkembang pula pola pikirnya (Aryani dkk. 2016).

Pada penelitian ini 94% responden mempunyai jabatan sebagai Apoteker Pengelola Apotek dan 91% mempunyai pendidikan akhir profesi Apoteker. Baik jabatan dan pendidikan terakhir dapat memiliki keterkaitan dalam mempengaruhi tingkat pengetahuan responden. Dimana, seseorang yang memiliki jenjang pendidikan dan jabatan lebih tinggi, akan memiliki pengetahuan dan wawasan yang lebih luas akibat dari relasi lingkungan sekitar serta kemudahan dalam mendapatkan informasi, sehingga akan berpengaruh pada kognitif seseorang (Aryani dkk., 2016). Persyaratan suatu apotek wajib memiliki minimal 1 orang penanggung jawab, yang nantinya dapat dibantu oleh apoteker pendamping maupun Tenaga Teknis Kefarmasian (TTK) (Anonim, 2019).

Jam kerja dan masa kerja dapat mempengaruhi tingkat pengetahuan seseorang. Pada penelitian ini, sebesar 46,25% responden memiliki jam kerja < 6 jam/hari dan 46,25% responden memiliki jam kerja 6 - 9 jam/hari. Dimana, semakin banyak jumlah jam kerja yang dicurahkan seorang pekerja, maka tingkat produktivitas dan kinerja akan meningkat (Collewet & Sauermann, 2017). Semakin tinggi jam kerja seorang apoteker di apotek, akan berpengaruh terhadap pengetahuan dan ketepatannya karena pada dasarnya apotek merupakan sarana pendidikan untuk apoteker (Dominica dkk., 2016). Sementara itu, sebagian besar responden yaitu 49% memiliki masa kerja 1 - 5 tahun. Semakin lama masa kerja, maka akan semakin banyak pula pengalaman dan pengetahuan yang didapatkan. Selain itu, masa kerja yang lebih lama dapat berpengaruh secara positif pada tingkat pendapatan (Angga dkk., 2017).

Kuesioner pengetahuan terdiri atas 9 item pertanyaan tentang pemusnahan obat dengan pilihan jawaban “benar” atau “salah”. Berdasarkan hasil kuesioner tentang pengetahuan apoteker dalam pemusnahan obat, diperoleh rekapitulasi data yang ditunjukkan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Kuesioner pengetahuan Apoteker tentang pemusnahan obat sisa, obat rusak, dan obat kedaluarsa di Apotek Malang Raya

| No. | Pertanyaan  | Total Responden menjawab “Benar” |
|-----|---|----------------------------------|
| 1.  | Obat kedaluarsa adalah obat yang melebihi tanggal kedaluarsa yang tercantum pada kemasan yang menandakan obat masih layak digunakan.  | 41 (38,68)                       |
| 2.  | Obat sirup dengan kondisi terdapat endapan didalamnya merupakan hal yang wajar sehingga pasien tidak perlu khawatir jika akan dikonsumsi kembali.   | 12 (11,32)                       |
| 3.  | Obat kedaluarsa mengalami penurunan efikasi, namun masih dapat dikonsumsi karena belum tentu berdampak negatif pada kesehatan pasien.   | 28 (26,42)                       |
| 4.  | Pemusnahan sediaan farmasi setiap golongan memiliki cara yang berbeda-beda sehingga harus dilakukan proses pemisahan antara golongan terkontrol (OOT, psikotropika dan narkotika) dan yang tidak (obat bebas, obat bebas terbatas, obat tradisional). | 94 (88,67)                       |
| 5.  | Pemusnahan obat selain narkotika dan psikotropika dapat dilakukan oleh apoteker sendiri tanpa disaksikan oleh tenaga kefarmasian lain.  | 37 (34,91)                       |
| 6.  | Apoteker menginformasikan kepada pasien bahwa obat sediaan padat yang tidak digunakan/rusak/kedaluarsa dimusnahkan dengan cara dihancurkan terlebih dahulu, dicampur dengan tanah kemudian dapat dibuang ke tempat sampah.                            | 75 (70,75)                       |
| 7.  | Apoteker menginformasikan kepada pasien bahwa obat sirup selain antibiotik yang sudah tidak digunakan/rusak/kedaluarsa boleh dibuang langsung ke kloset.  | 72 (67,92)                       |
| 8.  | Pemisahan obat berdasarkan bentuk sediaan tidak perlu dilakukan karena memiliki cara pemusnahan yang sama yaitu dibakar ditempat terbuka.   | 35 (33,02)                       |
| 9.  | Sisa obat racikan dengan formulasi cair yang mengandung pengawet tidak perlu dimusnahkan jika disimpan lebih dari 35 hari dalam suhu terkontrol.  | 12 (11,32)                       |

Kemudian dihitung total skor masing-masing responden dengan membandingkan jawaban benar terhadap total item pertanyaan kemudian dikali 100%. Hasil persentase skor masing-masing responden dikategorikan menjadi 3 kategori yaitu baik, cukup dan kurang sehingga diperoleh hasil yang dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Kategori tingkat pengetahuan Apoteker tentang pemusnahan obat sisa, obat rusak, dan obat kedaluarsa di Apotek Malang Raya

| Kategori | n (%)      |
|----------|------------|
| Baik     | 63 (59,43) |
| Cukup    | 38 (35,85) |
| Kurang   | 5 (4,72)   |
| Total    | 106 (100)  |

Hasil kuesioner tingkat pengetahuan pada Tabel 4 menunjukkan bahwa 63 orang (59,43%) responden memiliki kategori tingkat pengetahuan “baik”, 38 orang (35,85%) responden memiliki kategori tingkat pengetahuan “cukup” dan 5 orang (4,72%) responden memiliki kategori tingkat pengetahuan “kurang”. Adanya perbedaan kategori tingkat pengetahuan ini menandakan bahwa tingkat pengetahuan apoteker terhadap pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kedaluarsa tidak merata. Hal ini dapat disebabkan oleh tidak adekuatnya kesadaran dan praktik yang cukup terkait pemusnahan obat (Kriti dkk., 2016).

Seorang apoteker berkewajiban untuk melaksanakan pelayanan farmasi klinik yang salah

satunya adalah konseling. Adapun konseling merupakan kegiatan interaktif antara apoteker dengan pasien atau keluarga pasien untuk memberikan informasi terkait obat dengan tujuan untuk meningkatkan pengetahuan, kesadaran dan kepatuhan pasien dalam penggunaan obat (Alfadl dkk., 2018). Kuesioner tingkat pengetahuan pada penelitian ini memiliki 9 item pertanyaan dimana 7 dari 9 item pertanyaan tersebut berhubungan dengan pemberian konseling apoteker kepada pasien. Tingkat pengetahuan apoteker berpengaruh terhadap keberhasilan konseling yang dilakukan. Semakin tinggi tingkat pengetahuan, semakin tepat pula konseling yang disampaikan. Sebuah penelitian menyatakan bahwa pengetahuan merupakan salah satu komponen penting dalam melakukan konseling serta dapat pula menjadi hambatan terkait keberhasilan konseling (Layqah, 2018). Terdapat hambatan yang dialami oleh Apoteker dalam melakukan konseling yakni berasal dari kurangnya pengetahuan. Oleh karena itu, seorang apoteker sebagai *long life learner* dituntut untuk selalu aktif dalam memperbarui informasi dengan mengikuti seminar, *workshop* dan pelatihan (Lutfiyati dkk., 2016).

Pemberian kuesioner ketepatan ditujukan untuk mengukur tingkat ketepatan pemusnahan terhadap obat sisa, obat rusak dan obat kedaluarsa. Kuesioner ketepatan terdiri dari 6 item pertanyaan dengan pilihan jawaban “ya” atau “tidak”. Berdasarkan hasil kuesioner ketepatan apoteker dalam pemusnahan obat, diperoleh rekapitulasi data yang ditunjukkan pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil kuesioner ketepatan Apoteker dalam memusnahkan obat sisa, obat rusak dan obat kedaluarsa di Apotek Malang Raya

| No | Pertanyaan  | Total Responden menjawab “Iya” |
|----|---|--------------------------------|
| 1. | Jika sediaan OOT/narkotika/psikotropika akan dimusnahkan, Bapak/Ibu mengirimkan undangan kepada sejawat apoteker lain untuk menjadi saksi resmi acara pemusnahan                        | 54 (50,94)                     |
| 2. | Bapak/Ibu menggunakan metode pelarutan untuk memusnahkan OOT/narkotika/psikotropika karena dapat mengurangi pencemaran lingkungan   | 69 (65,09)                     |
| 3. | Bapak/Ibu menjelaskan tata cara pembuangan obat dengan baik dan benar kepada pasien yang membeli obat   | 94 (88,68)                     |
| 4. | Bapak/Ibu menyarankan pasien untuk segera membuang obat tetes mata yang sudah disimpan selama >30 hari setelah dibuka dengan cara dilarutkan lalu dibuang melalui kloset                | 86 (81,13)                     |
| 5. | Bapak/Ibu menjelaskan kepada pasien bahwa obat-obatan dalam bentuk padat yang sudah tidak digunakan/rusak/kedaluarsa harus dihancurkan terlebih dahulu sebelum dibuang ke tempat sampah | 96 (90,57)                     |
| 6. | Bapak/Ibu menyarankan pasien untuk membuang obat dalam bentuk semipadat seperti salep/krim dengan cara langsung dibuang ke tempat sampah  | 24 (22,64)                     |

Berikutnya, dilakukan pengelompokan antara responden “tepat” dan “tidak tepat”. Dimana, responden dikatakan “tepat” jika dapat menjawab seluruh item pertanyaan kuesioner ketepatan dengan benar, dan dikatakan “tidak tepat” jika terdapat jawaban yang salah. Hasil kategori dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Hasil kuesioner ketepatan Apoteker dalam memusnahkan obat sisa, obat rusak dan obat kedaluarsa di Apotek Malang Raya

| Kategori    | n (%)      |
|-------------|------------|
| Tidak tepat | 95 (89,62) |
| Tepat       | 11 (10,38) |
| Total       | 106 (100)  |

Berdasarkan tabel diatas dapat diketahui bahwa 11 orang (10,38%) dikatakan “tepat” dan 95 orang (89,62%) lainnya dikatakan “tidak tepat” dalam pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kedaluarsa. Persentase jumlah responden “tepat” dan “tidak tepat” sangat berbeda jauh. Responden dengan kategori “tepat” terhadap pemusnahan obat, memiliki pengalaman serta *training* yang baik selama masa perkuliahan mengenai pemusnahan obat. Selain itu, dapat pula disebabkan karena responden tersebut memiliki persepsi yang baik tentang pemusnahan obat (Abahussain dkk., 2012). Untuk responden dengan kategori “tidak tepat” terhadap pemusnahan obat, dapat disebabkan karena kurangnya pengalaman dan pengetahuan terkait pemusnahan obat serta tidak terdapat pedoman atau standar prosedur operasional di Apotek. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya bahwa responden tidak melakukan pemusnahan dengan baik akibat tidak ada pedoman dan kebijakan daerah kota Serang terkait pemusnahan obat serta tidak ada dana yang cukup untuk melakukan pemusnahan obat (Nuryeti & Ilyas, 2018). Hasil uji korelasi antara tingkat pengetahuan dan ketepatan dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Hubungan antara tingkat pengetahuan dan ketepatan Apoteker dalam memusnahkan obat sisa, obat rusak dan obat kedaluarsa di Apotek Malang Raya

| Tingkat pengetahuan | Ketepatan    |               | Total       | P-value |
|---------------------|--------------|---------------|-------------|---------|
|                     | Tepat        | Tidak Tepat   |             |         |
| Baik                | 4<br>(6,35)  | 59<br>(93,65) | 63<br>(100) | 0,522   |
| Cukup               | 3<br>(13,04) | 20<br>(89,95) | 23<br>(100) |         |
| Kurang              | 4<br>(20)    | 16<br>(80)    | 20<br>(100) |         |

Berdasarkan Tabel 6 diketahui bahwa hasil uji korelasi antara tingkat pengetahuan dan ketepatan dengan menggunakan uji korelasi *Rank Spearman*, memiliki nilai signifikansi 0,522, sehingga dapat disimpulkan tidak ada hubungan antara tingkat pengetahuan dan ketepatan apoteker terhadap pemusnahan obat rusak, obat sisa dan obat kedaluarsa. Pada penelitian ini digunakan uji *Rank Spearman* karena data yang diuji berupa data pengetahuan Apoteker terkait pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kedaluarsa (yang dikategorikan menjadi baik, cukup dan kurang) dan ketepatan Apoteker pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kedaluarsa (yang dikategorikan menjadi tepat dan tidak tepat).

Pengetahuan tidak mempengaruhi ketepatan karena pada dasarnya ketepatan pemusnahan obat tersebut timbul akibat pengaruh lingkungan kerja berupa ketersediaan Standar Prosedur Operasional atau pedoman pemusnahan obat yang jelas, sarana prasarana terkait pemusnahan obat, serta dana yang digunakan untuk pemusnahan obat. Standar Prosedur Operasional bermanfaat untuk menjamin metode pemusnahan yang dilakukan sesuai standar dan konsisten sehingga mencapai sebuah tujuan. Sebuah penelitian yang dilakukan di Kuwait menunjukkan bahwa 73% apoteker membuang obat-obatan yang tidak terpakai langsung ke tempat sampah tanpa menggunakan metode pemusnahan yang tepat. Ketidaktepatan metode pemusnahan ini lebih disebabkan karena ketiadaan Standar Prosedur Operasional mengenai cara pemusnahan obat dibandingkan dengan kesadaran apoteker mengenai bahaya pemusnahan obat yang tidak tepat bagi lingkungan (Abahussain dkk., 2012).

Selain itu, ketersediaan dana pemusnahan obat juga mempengaruhi ketepatan apoteker dalam melakukan pemusnahan (Alnahas dkk., 2020). Sebuah penelitian menyatakan bahwa beberapa puskesmas di wilayah kota Serang tidak melakukan pemusnahan obat karena masalah finansial (Nuryeti & Ilyas, 2018). Hal ini berbeda dengan negara-negara maju seperti Australia, United Kingdom dan United States of America, yang memiliki anggaran dana untuk pemusnahan obat, sehingga dapat dibuat beberapa macam program seperti *Return of Unwanted Medicine* untuk membantu masyarakat dalam memusnahkan obat yang sudah tidak terpakai.

Peran seorang apoteker telah beralih dari *drug oriented* menjadi *patient oriented*, dimana salah satu aspek pelayanan kefarmasian yang berkaitan langsung dengan pasien adalah konseling. Konseling merupakan

proses penyampaian informasi terkait obat secara interaktif antara apoteker dengan pasien atau keluarga pasien untuk meningkatkan pengetahuan, pemahaman dan kepatuhan pasien terhadap penggunaan obat. Apabila seorang Apoteker tidak tepat dalam menyampaikan konseling, hal ini dapat disebabkan karena kurangnya pengetahuan Apoteker tersebut. Apoteker tidak hanya memberikan konseling kepada pasien terkait obat dan pengobatannya, tetapi juga perlu memberikan konseling atau edukasi mengenai cara pengelolaan obat di mana termasuk penyimpanan dan pembuangan obat (Lutfiyati dkk., 2016, Layqah, 2018). Pada penelitian ini, terdapat 7 dari 9 item pertanyaan dalam kuesioner pengetahuan dan 4 dari 6 item pertanyaan dalam kuesioner ketepatan yang terkait dengan konseling kepada pasien. Namun karena pada penelitian ini tingkat pengetahuan apoteker tidak memiliki hubungan yang bermakna terhadap ketepatan pemusnahan obat, maka konseling mungkin tidak memiliki keterkaitan pula terhadap keduanya. Akan tetapi, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait konseling sebab peneliti tidak melakukan penelitian secara langsung sehingga tidak diketahui dengan pasti aspek-aspek yang disampaikan apoteker ketika konseling.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah penelitian ini dilakukan dengan menggunakan kuesioner online dikarenakan adanya pandemik COVID-19 sehingga peneliti tidak melakukan tatap muka langsung dengan responden, hal ini membuat responden dapat bertanya kepada orang lain atau mencari jawaban di media elektronik mengenai pertanyaan pada kuesioner yang diberikan oleh peneliti.

## KESIMPULAN

Sebagian besar apoteker yang berpraktik di apotek wilayah Malang Raya memiliki pengetahuan baik mengenai pemusnahan obat sisa, obat rusak dan obat kedaluwarsa. Meskipun demikian, sebagian besar apoteker masih tidak tepat dalam memusnahkan obat sisa, rusak, dan kedaluwarsa, sehingga hasil uji korelasi antara pengetahuan dan ketepatan tersebut tidak berhubungan secara signifikan. Diperlukan pedoman teknis pengelolaan limbah obat di apotek yang tepat sesuai bentuk sediaan sebab belum tercantum dalam standar pelayanan kefarmasian di apotek.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kepada Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya atas bantuan dana

untuk penelitian ini melalui hibah DPP SPP FKUB tahun 2020.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abahussain, E., Waheedi, M. & Koshy, S. (2012). Practice, Awareness and Opinion of Pharmacists Toward Disposal of Unwanted Medications in Kuwait. *Saudi Pharmaceutical Journal*; 20; 195–201.
- Al-Shareef, F., El-Asrar, S. A., Al-Bakr, L., Al-Amro, M., Alqahtani F., Aleanizy, F. & Al-Rashood, S. (2016). Investigating the Disposal of Expired and Unused Medication in Riyadh, Saudi Arabia: a Cross-Sectional Study. *International Journal of Clinical Pharmacy*; 38; 822–828.
- Albaroodi, K. A. I. (2019). Pharmacists' Knowledge Regarding Drug Disposal in Karbala. *Pharmacy*; 7; 1-7.
- Alfadl, A. A., Alrasheedy, A. A. & Alhassun, M. S. (2018). Evaluation of Medication Counseling Practice at Community Pharmacies in Qassim region, Saudi Arabia. *Saudi Pharmaceutical Journal*; 26; 258–262.
- Alnahas, F., Yeboah, P., Fliedel, L., Abdin, A. Y. & Alhareth, K. (2020). Expired Medication: Societal, Regulatory and Ethical Aspects of a Wasted Opportunity. *International Journal of Environmental Research and Public Health*; 17; 1-17.
- Angga, S. Y., Pramestutie, H. R. & Sidharta, B. (2017) Profil Kualitas Pelayanan Resep oleh Apoteker di Beberapa Apotek Kecamatan Klojen Kota Malang. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*; 3; 1–9.
- Anonim. (2019). Petunjuk teknis pelayanan kefarmasian di Apotek. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Aryani, A. F., Kusuma, A. M. & Galistiani, G. F. (2016). Hubungan Tingkat Pengetahuan Pengelola Obat Terhadap Pengelolaan Obat Di Puskesmas. *Jurnal Manajemen dan Pelayanan Farmasi (Journal of Management and Pharmacy Practice)*; 6; 303-311.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan. (2018) Pengawasan Pengelolaan Obat, Bahan Obat, Narkotika, Psikotropika, dan Prekursor Farmasi di Fasilitas Pelayanan Kefarmasian. Jakarta: BPOM.
- BPOM. (2018). Pengawasan Pengelolaan Obat, Bahan Obat, Narkotika, Psikotropika, dan Prekursor di Fasilitas Pelayanan Kefarmasian. Jakarta: BPOM.
- Collewet, M. & Sauermann, J. (2017). Working Hours and Productivity. *Labour Economics*; 47; 96–106.

- Dar, M. A., Maqbool, M. & Rasool, S. (2019). Pharmaceutical Wastes and their Disposal Practice in Routine. *International Journal of Information and Computer Science*; 6; 76–92.
- Daughton, C. (2010). Do Pharmaceutical Take-Back Programs Make a Difference?. *Environmental Health Perspectives*; 118; 211–214.
- Dominica, D., Putra, D. P. & Yuliharsi, Y. (2016). Effect of Pharmacist Presence to Pharmaceutical Service at Pharmacies of Padang City, Indonesia). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*; 3; 99-107.
- Food and Drug Administration (FDA). (2013). How to Dispose of Unused Medicines: Guidelines for Drug Disposal. Silver Sprint: Food and Drug Administration.
- Gul, A., Nazish, S., Sabir, S., Nazish, H. & Masood, T. (2016). Expired Drugs-Awareness and Practices of Outdoor Patients. *Journal of Rawalpindi Medical Collage Student Supplement*; 20; 45–48.
- IAI. (2014) Pedoman Pelaksanaan Gerakan Keluarga Sadar Obat. Jakarta: IAI.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2017) *Cara Cerdas Gunakan Obat*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kriti, B., Rehan, H.S. & Arora, T. (2016). Comparison of the Knowledge, Attitude, and Practices of Doctors, Nurses, and Pharmacists Regarding the Use of Expired and Disposal of Unused Medicines in Delhi. *Indian Journal of Pharmacology*; 48; 725–728.
- Layqah, L. (2018). The Practice of Counseling in Pharmacy: Patients' Perspectives, *Journal of Analytical & Pharmaceutical Research*; 7; 472–476.
- Lutfiyati, H., Yulastuti, F. & Dianita, P. S. (2016) Pelaksanaan Konseling oleh Apoteker di Apotek Kecamatan Temanggung. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*; 2; 24–29.
- Michael, I., Ogbonna, B., Sunday, N., Anetoh, M. & Matthew, O. (2019). Assessment of Disposal Practices of Expired and Unused Medications Among Community Pharmacies in Anambra State Southeast Nigeria: A Mixed Study Design. *Journal of Pharmaceutical Policy and Practice*; 12; 1–10.
- Nuryeti, Y. & Ilyas, Y. (2018). Pengelolaan Obat Kedaluwarsa dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Lingkungan di Puskesmas Wilayah Kerja Kota Serang. *HIGIENE: Jurnal Kesehatan Lingkungan*; 4; 138–142.
- Pharmacopeia, U. (2019). Pharmaceutical Compounding-Nonsterile Preparation (revised): Chapter 795. United States: The United States Pharmacopeial Convention.
- Radhakrishna, L. & Nagarajan, P. (2015) 'Pharmacist's Opinion and Practice Towards Disposal of Unused Medications in South. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*; 3; 654–657.
- Sarla, G. S. (2020). Efficacy and Disposal of Drug After the Expiry Date. *Egypt Journal Internal Medicine*; 31; 403–407.
- Tong, A. Y. C., Peake, B. M. & Braund, R. (2011). Disposal Practices for Unused Medications in New Zealand Community Pharmacies. *Journal of Primary Health Care*; 3; 197–203.
- WHO. (2017). Safe Management of Wastes from Health - Care Activities: a Summary. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/259491/WHO-FWC-WSH-17.05-eng.pdf;jsessionid=BE197A8BAB73EC864CA3573E15D4F0E6?sequence=1>. Accessed: 27 May 2021.

**In Vitro Antimalarial Activity and Toxicity of *Helianthus annuus* L. Leaf Extract against *Plasmodium falciparum***

Nuriha Marangoh<sup>1</sup>, Suciati<sup>2</sup>, Wiwied Ekasari<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Master Program of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

<sup>2</sup>Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

\*Corresponding author: wiwied-e@ff.unair.ac.id

Submitted: 26 January 2021

Accepted: 6 July 2021

Published: 30 November 2021

**Abstract**

**Background:** Malaria is one of the public health problems in Indonesia. The morbidity rate is still quite high, especially in the eastern part of Indonesia. **Objective:** This study aimed to determine the inhibitory activity of the leaf extracts of *Helianthus annuus* L. against *Plasmodium falciparum* strain 3D7 as well as the cytotoxicity of the extracts. **Methods:** The leaves of *H. annuus* were extracted by the maceration method with n-hexane, chloroform, and ethanol 96% to increase polarity. The antimalarial assay was performed by using Trager and Jensen method, and the cytotoxicity test was carried out by the MTT method. **Results:** The results of antimalarial study showed that the chloroform extract had IC<sub>50</sub> value of 0.002 µg/mL and CC<sub>50</sub> value of 138.03 µg/mL, 96% ethanol extract had an IC<sub>50</sub> value of 0.02 µg/mL and CC<sub>50</sub> value of 617.81 µg/mL, and n-hexane extract had an IC<sub>50</sub> value of 1.29 µg/mL and CC<sub>50</sub> value of 104.89 µg/mL. The selectivity index (SI) values of the chloroform, ethanolic, and n-hexane extracts were calculated and obtained 69,015.00, 30,890.50, and 81.31, respectively. **Conclusion:** To conclude, the chloroform extract of *H. annuus* L. leaf gave strong antimalarial activity against *P. falciparum* strain 3D7 without any cytotoxicity; therefore, *H. annuus* L. leaf can be a good candidate for the development of an antimalarial drug.

**Keywords:** antimalarial, *Helianthus annuus* L., *Plasmodium falciparum*, IC<sub>50</sub>, cytotoxicity

**Abstrak**

**Pendahuluan:** Penyakit malaria merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat di Indonesia. Angka kesakitan penyakit ini masih cukup tinggi, terutama di daerah Indonesia bagian timur. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimalaria terhadap *Plasmodium falciparum* strain 3D7 secara *in vitro* dan uji toksisitas dengan menggunakan ekstrak dari daun *Helianthus annuus* L. **Metode:** Daun *H. annuus* diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat cara menggunakan pelarut n-heksana, kloroform dan etanol 96% secara berurutan. Uji antimalaria dilakukan dengan metode Trager dan Jensen, sedangkan uji toksisitas dengan metode MTT. Indeks Selektivitas (SI) dihitung berdasarkan rasion CC<sub>50</sub>/IC<sub>50</sub>. **Hasil:** Ketiga ekstrak menunjukkan aktivitas antimalaria, ekstrak kloroform memiliki nilai IC<sub>50</sub> 0,002 µg/mL dan CC<sub>50</sub> sebesar > 100 µg/mL, ekstrak etanol 96% memiliki harga IC<sub>50</sub> 0,02 µg/mL dan CC<sub>50</sub> >100 µg/mL, dan ekstrak n-heksana memiliki harga IC<sub>50</sub> 1,29 µg/mL dan CC<sub>50</sub> > 100 µg/mL. Hasil perhitungan indeks selektivitas yaitu ekstrak kloroform memiliki SI 69.015,00, ekstrak etanol 96% memiliki SI sebesar 30,890,50 dan ekstrak n-heksana memiliki SI sebesar 81,31. **Kesimpulan:** Ekstrak kloroform daun *H. annuus* menunjukkan aktivitas antimalaria paling kuat diantara sampel uji dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 0,002 µg/mL, serta menunjukkan bahwa toksisitas yang rendah dengan harga CC<sub>50</sub> sebesar > 100 µg/mL. Oleh karena itu daun *H. annuus* diharapkan dapat dikembangkan menjadi kandidat untuk pengembangan obat antimalaria yang efektif dan aman.

**Kata kunci:** antimalarial, *Helianthus annuus* L., *Plasmodium falciparum*, IC<sub>50</sub>, cytotoxicity



## INTRODUCTION

Malaria is still considered one of the significant health problems in low and middle tropical countries (WHO, 2016). Malaria is caused by the infection of protozoa from the genus *Plasmodium* which is transmitted through infected female *Anopheles* mosquito bites. This disease greatly affects mortality and health, especially in high-risk groups, such as infants, toddlers, and pregnant women, with 45% to 50% cases due to *Plasmodium falciparum* infection (WHO, 2016). As reported annually, Indonesia is one of nine malaria-endemic countries in the South-East Asia region, accounting for 21% of the region's reported cases and 16% of malaria deaths (WHO, 2019). Middle and high endemic malaria areas include Papua, West Papua, and East Nusa Tenggara malaria (Department of Disease Control, Ministry of Public Health, 2018).

Antimalarial drugs that exist today are still effective but threatened by increased resistance; for that, plants can be one of the antimalarial drugs that are clinically effective and can be well tolerated so that they can be an essential alternative treatment. One of the plants that can be used is *Helianthus annuus* L. (sunflower). This plant is from the Asteraceae family and has been scientifically proven to have antimalarial activity. The ethanolic extract of *H. annuus* root showed antimalarial activity with IC<sub>50</sub> values of  $2.3 \pm 1.4 \mu\text{g/}$  (Ekasari *et al.*, 2019). However, using the root as a source of antimalarial agents has many obstacles, mainly because it can kill the plant itself. Based on this, the present study continues to examine the antimalarial activity of other parts *H. annuus*, such as the leaves, which have long been used as a traditional antimalarial drug (Muti'ah *et al.*, 2013). Triastutik (2013) reported that the ethyl acetate fraction of *H. annuus* leaf contains sesquiterpenes, and this has been proven by identification using UPLC-MS which shows the presence of artemisinin, heliangolide, linoleic acid, and eupalinolide C (Muti'ah *et al.*, 2013). Sesquiterpenes have been known to have antimalarial activity through the formation of free radicals and destroy vital components of the parasite so that the parasites die (Macias *et al.*, 2002).

Based on the background above, this study focus on the antimalarial activity of three extracts (n-hexane, chloroform, and ethanol) of *H. annuus* leaf against *P. falciparum* strain 3D7. The cytotoxicity study was also conducted to preliminary determine the safety of the extracts (Soh & Benoit-Vical, 2007).

In addition to activity, data on an ingredient's safety or cytotoxicity is an important part of the research. As a result, a cytotoxicity test was performed on each extract

of the test using the MTT assay method, yielding the CC50 value, while the SI value was calculated from the CC50 value to IC50, determining the potential criteria for safe therapeutic extracts to inhibit parasitic growth without cytotoxicity.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

The solvents used to make *H. annuus* L. leaf extracts were n-hexane (Merck), chloroform (Merck), ethanol 96% (Merck), ethyl acetate (Merck), NH<sub>4</sub>OH, and aquadest. Materials used to make *P. falciparum* culture media and to make *in vitro* test solutions were aquadest, HEPES buffer (Sigma), RPMI 1640 (Gibco BRL., USA), sodium bicarbonate, gentamicin, plasma, and human erythrocytes, DMSO (Sigma-Aldrich), Giemsa dyes, methanol, and emersion oil.

### Plant materials

The leaves of *H. annuus* L. were obtained from PT. Megastar Oro-Oro Ombo, Malang, East Java, in November 2016. Materia Medica Batu, East Java identified the sample, and the voucher specimen (number 074/008/101.8/2017) was kept at the Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga. The leaves were air-dried at room temperature for seven days. The dried leaves were then grounded before extraction.

### Method

#### Extraction

Extraction was carried out by using the maceration method. Dried leaf powder of *H. annuus* (500 g) was extracted exhaustively with n-hexane, chloroform, and ethanol to increase polarity. The sample was immersed in the n-hexane for 24 h, followed by filtration to separate the extract and residue. The residue was then re-extracted with n-hexane, the procedure was repeated three times for each solvent. The residue was air-dried for 1 - 2 hours to remove any remaining solvent before extraction with the next solvent. All collected filtrates were then concentrated in vacuo to obtain the n-hexane, chloroform, and ethanolic extracts, and the weight of which were 16.45 g, 38.48 g, and 31.00 g, respectively.

#### Antimalarial activity

*P. falciparum* 3D7 strain (chloroquine-sensitive) were used and cultivated using the Trager and Jensen method (Pandey *et al.*, 1999). Serial concentrations of the extracts that were tested for antimalarial activity were 100; 10; 1.0; 0.1; and 0.01  $\mu\text{g/mL}$ . The antimalarial assay was done in 24 microwell plates with 1% initial and experimental parasitemia (1 mL/well suspension). It was placed in a candy jar and CO<sub>2</sub> incubator at 37°C for 48 hours. The incubated materials were then collected

and used to make a thin smear in a glass slide, fixated in methanol, and stained with 10% Giemsa. The number of parasites was then observed under a microscope and compared with the negative control to determine the percentage of parasite growth inhibition. The IC<sub>50</sub> value was calculated using Probit Analysis.

**Cytotoxicity assay**

The cytotoxicity test was carried out by using Huh7it cells at 96 well microplates with a density of 3 x 10<sup>4</sup> cells/well in 100 µL/well. The condition of incubation was 5% CO<sub>2</sub>, 37°C for 24 hours. After the incubation, 100 µL of extracts were added to each well at concentrations 2000, 1000, 800, 600, 400, 200, 100, 10, 1, 0.1, and 0.01 µg/mL, followed by incubation for 48 hours. After that, 150 µL of MTT solution was added and then absorbance was measured at 560 nm and 750 nm (Widyawaruyanti *et al.*, 2015)

**Data analysis**

Calculation of inhibition concentration 50% (IC<sub>50</sub>) and cytotoxic concentration (CC<sub>50</sub>) was undertaken using Probit analysis. A regression curve was plotted

between the logarithm of sample concentration (x) and the percentage inhibition (y) to obtain a linear regression equation.

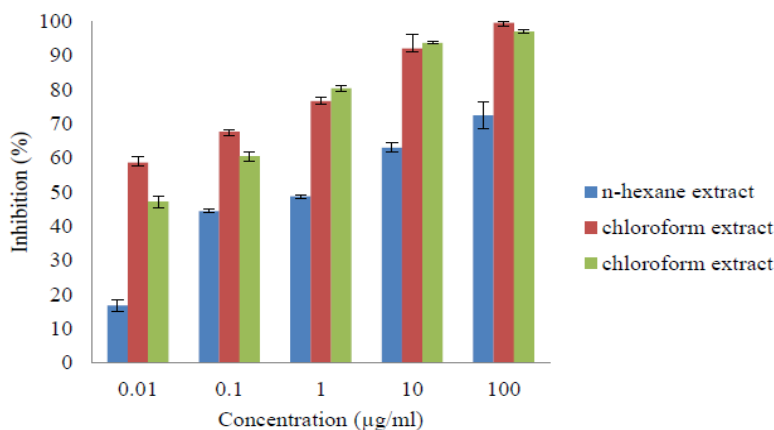
**RESULTS AND DISCUSSION**

Table 1 showed that all the leaf extracts of *H. annuus* had an inhibitory effect against *Plasmodium falciparum* strain 3D7. The percentage inhibition among the concentration tested revealed a dose dependents effect. The percentage inhibition increased in the higher concentration. The results of the antimalarial study showed that the chloroform extract had an IC<sub>50</sub> value of 0.002 µg/mL, 96% ethanol extract had an IC<sub>50</sub> value of 0.02 µg/mL, and n-hexane extract had an IC<sub>50</sub> value of 1.29 µg/mL.

Chloroform extract of *H. annuus* L. leaf showed the highest inhibitory activity against *Plasmodium falciparum* which caused malaria, compared to other extracts (Figure 1). Chloroform extract from *H. annuus* L. leaf had antimalarial activity against *P. falciparum* strain 3D7 with an IC<sub>50</sub> value of 0.002 µg/mL.

**Table 1.** The IC<sub>50</sub>, CC<sub>50</sub>, and SI Values of *H. annuus* L. leaf extracts towards *P. falciparum* strain 3D7 at 48 hours

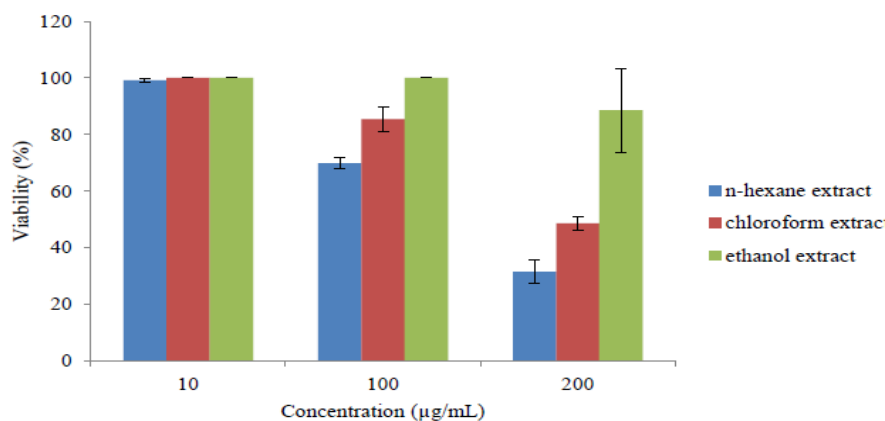
| Samples                            | CC <sub>50</sub> (µg/mL) | IC <sub>50</sub> (µg/mL) | Selectivity Index |
|------------------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------|
| <i>H.annuus</i> n-hexane extract   | 104.89 ± 1.81            | 1.29 ± 0.19              | 81.31             |
| <i>H.annuus</i> Chloroform extract | 138.03 ± 1.36            | 0.002 ± 0.002            | 69,015.00         |
| <i>H.annuus</i> Ethanol extract    | 617.81 ± 4.58            | 0.02 ± 0.005             | 30,890.50         |



**Figure 1.** The percentage inhibition of *Helianthus annuus* L. leaf extract against *Plasmodium falciparum* 3D7 strain

Furthermore, to determine the level of safety or cytotoxicity of the test material, the cytotoxicity test was conducted using the MTT assay method. Hepatocyte cells that had been infected with *P. falciparum* would react with the MTT reagent to produce a purple colour which was then absorbed by absorbance at wavelengths of 560 nm and 750 nm. The cell viability was calculated based on the chloroform extract had CC<sub>50</sub> value of 138.03 µg/mL, 96% ethanol extract had CC<sub>50</sub> value of 617.81 µg/mL, and n-hexane extract had CC<sub>50</sub> value of

104.89 µg/mL, and chloroform extract had SI of 69,015.00, 96% ethanol extract had SI of 30,890.50 and n-hexane extract had viability percentage compared to the absorbance of the control. Cytotoxicity test results from *H. annuus* L. leaf extract can be seen in Figure 2. In Table 1, according to Peters *et al.* (1975) and Fadeyi *et al.* (2013), the cytotoxicity classification of all *H. annuus* L. leaf extracts was reported non-toxic to *P. falciparum* strain 3D7 with a CC<sub>50</sub> > 30 µg/mL.



**Figure 2.** Cytotoxicity test results of *Helianthus annuus* L. leaf extracts

In Table 1, it could be seen that the  $IC_{50}$  value of Chloroform extract provided the highest antimalarial activity with an  $IC_{50}$  value of 0.002 µg/mL and included in the highly active category ( $< 0.1$  µg/mL) (Noor, 2007), with  $CC_{50}$  from the chloroform extract of 138.03 µg/mL and SI 69,015.00. Whereas, the n-hexane extract gave antimalarial activity with an  $IC_{50}$  value of 1.29 µg/mL so that the active category ( $> 0.1$  µg/mL) was included (Noor, 2007), and the  $CC_{50}$  value was 617.81 µg/mL, and in the ethanol extract the  $IC_{50}$  value was 0.02 µg/mL and was included in the very active category (Noor, 2007) and  $CC_{50}$  value was 104.89 µg/mL.

Antimalarial activity of *H. annuus* L. leaf chloroform extract may be caused by the metabolite in the extract. It was reported that *H. annuus* L. leaf extracted with dichloromethane solvent contain terpenoid class compounds, namely: lactone sesquiterpenes, annuolide E, leptocarpin, bisnorsesquiterpene, Eannuionone, and sesquiterpen L, heliannuol, helibisabonol A (Macias *et al.*, 2002). This is reinforced by the research of Triastutik (2013) that based on the identification of methanol extracts of *H. annuus* L. leaf, it was found the lactone sesquiterpenes compound, while the research of Mutiah *et al.* (2017) show that in the ethyl acetate fraction it was found artemisinin compound. These two compounds are important components to be effective compounds that can inhibit *Plasmodium falciparum* 3D7 parasites. Sesquiterpenes have been known to have antimalarial activity through the formation of free radicals and destroy vital components of the parasite so that the parasites die (Macias *et al.*, 2002).

The Selectivity Index (SI) value was calculated as the  $CC_{50}$  value to  $IC_{50}$  in Table 1 shows that all extracts have a good SI value towards *P. falciparum* 3D7. Since all the values of SI were greater than four ( $> 4$ ), they are included in the active category and said that a good

value of selectivity index could be a promising drug (Badisa *et al.*, 2009). On the other hand, a high selectivity index can be a safer therapy potential because the selectivity index is introduced as potential extract to inhibit parasitic growth without cytotoxicity (Soh & Benoit-Vical, 2007).

As a result, it was proposed that the extract can be used to isolate antimalarial compounds in a safe and effective manner. (Kweyamba *et al.*, 2019).

## CONCLUSION

The leaf of *Helianthus annuus* L. can be a good candidate for antimalarial drug development. The chloroform extract of the leaf possesses the strongest antimalarial activity compared to the n-hexane and ethanol extracts.

## ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by "Riset Mandat" of Universitas Airlangga Scheme.

## REFERENCES

- Badisa, R. B., Darling-Reed, S. F., Joseph, P., Cooperwood, J. S., Latinwo, L. M. & Goodman, C. B. (2009). Selective Cytotoxic Activities of Two Novel Synthetic Drugs on Human Breast Carcinoma MCF-7 Cells. *Anticancer Research*; 29; 2993-2996.
- Ekasari, W., Pratiwi, D. W., Amanda, Z., Suciati, Widyawaruyanti, A., Arwati, H. & Uzor, P. F. (2019). Various Parts of *Helianthus annuus* Plants as New Sources of Antimalarial Drugs. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*; 2019; 1-6.
- Department of Disease Control, Ministry of Public Health. (2018). Malaria Disease Situation in Thailand (Online).

- <https://ddc.moph.go.th/uploads/ckeditor/6f4922f45568161a8cdf4ad2299f6d23/files/Malaria/2562/Malarai%20w22.pdf>. Accessed: 7 June 2019.
- Fadeyi, S. A., Fadeyi, O. O., Adejumo, A. A. & Okoro, C. (2013). In Vitro Anticancer Screening of 24 Locally Used Nigerian Medicinal Plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*; 79; 1–9.
- Kweyamba, P. A., Zofou, D., Efange, N., Assob, J. C. N., Kitau, J. & Nyindo, M. (2019). In Vitro and In Vivo Studies on Anti-Malarial Activity of *Commiphora africana* and *Dichrostachys cinerea* Used by the Maasai in Arusha Region, Tanzania. *Malaria Journal*; 119; 1-6.
- Macias, F. A., Torres, A., Galindo, L. G., Varela, R. M., Alvarez, J. A. & Molinillo, J. M. G. (2002). Bioactive Terpenoids from Sunflower Leaves Cv. Peredovick. *Phytochemistry*; 61; 687-692.
- Muti'ah, R., Hayati, E. K. & Khairunnisak. (2013). The Effectivity of Etanolic Extract Sunflower Leaves (*Helianthus annuus*) as Anti-malarial Agent Against *Plasmodium berghei*. *Proceeding International Conference*; 6; 313–320.
- Mutiah, R., Badiah, R., Hayati, E. K. & Widyawaruyanti, A. (2017). Activity of Antimalarial Compounds from Ethyl Acetate Fraction of Sunflower Leaves (*Helianthus annuus* L.) against *Plasmodium falciparum* Parasites 3D7 Strain. *Asian Journal of Pharmacy and Technology*; 7; 61-65.
- Noor, R. A., Khozirah, S., Mohd Ridzuan, M. A., Ong, B. K., Rohaya, C., Rosilawati, M., Hamdino, I., Badrul, A. & Zakiah, I. (2007). Antiplasmodial Properties of Some Malaysian Medicinal Plants. *Tropical Biomedicine*; 24; 29–35.
- Pandey, A. V., Tekwani, B. L., Singh, R. L. & Chauhan, V. S. (1999). Artemisinin, and Endoperoxide Antimalarial, Disrupts the Hemoglobin Catabolism and Heme Detoxification Systems in Malarial Parasite. *Journal of Biological Chemistry*; 274; 19383–19388.
- Peters, W. J., Portus, H. & Robinson, B. L. (1975). The Chemotherapy of Rodent Malaria, XXII: the value of Drug-Resistant Strains of *P. Berghei* in Screening for Blood Schizontocidal Activity. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*; 69; 155-171.
- Soh, P. N. & Benoit-Vical, F. (2007). Are West African Plants a Source of Future Antimalarial Drugs?. *Journal of Ethnopharmacology*; 114; 130–140.
- Triastutik, Y. (2013). Aktivitas Antimalaria Ekstrak Kasar Seskuiterpen dari Daun Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L.) terhadap Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Skripsi*; Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Widyawaruyanti, A., Khasanah, U., Tumewu, L., Ilmi, H., Hafid, H. A. & Tantular, I. S. (2015). Antimalarial Activity and Cytotoxicity Study of Ethanol Extract and Fraction from *Alectryon Serratus* Leaves. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*; 7; 250-253.
- World Health Organization (WHO). (2019). World Malaria Report by WHO. <https://www.who.int/indonesia/news/detail/25-11-2019-title-joint-malaria-programme-review-reveals-indonesia-is-on-track-for-malaria-elimination>. Accessed: 7 May 2021.
- WHO. (2016). World Malaria Report (Global malaria programme). Geneva: WHO.

## Pengembangan Sediaan Emulgel Antioksidan dan Tabir Surya Mengandung Ekstrak Kulit Buah Cokelat (*Theobroma cacao* L)

### *The Development of Antioxidant and Sunscreen Emulgel Containing Cocoa Pod Husk Extract (*Theobroma cacao* L)*

Sani Ega Priani\*, Rizki Anggara Permana, Mira Nurseha, Ratih Aryani  
Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Bandung, Bandung, Indonesia

\*Corresponding author: sani.ega.p@unisba.ac.id

Submitted: 6 February 2021

Accepted: 26 August 2021

Published: 30 November 2021

#### **Abstract**

**Background:** Cocoa pod husk is a waste chocolate processing that has not been widely used. Previous research has shown that cocoa pod husk contains polyphenol and flavonoid compounds so the it potential to have antioxidant and photoprotective activities. **Objective:** The study was conducted to determine the antioxidant and sunscreen activities of the cocoa pod husk extract and to develop the extract into an emulgel with good physical properties and stability. **Methods:** The extraction process was conducted by maceration using 70% ethanol. The antioxidant activity test was performed using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) method and the sunscreen activity test was conducted using the spectrophotometric-based Mansur method. Emulgel preparations are made using olive oil as the oil phase, sodium lauryl sulfate and ceto stearyl alcohol as the surfactant, and viscolam mac 10 as the gelling agent. **Results:** The results showed that the cocoa pod husk extract has a very strong antioxidant activity indicated by an  $IC_{50}$  value of  $16.74 \pm 0.72$  ppm and also had sunscreen activity with an SPF value of  $10.78 \pm 0.85$  (1000 ppm). The emulgel preparation with 2% of extract has good physical characteristics based on organoleptic, pH, homogeneity, spreadability, viscosity, and rheology tests. The preparation was also stable based on freeze-thaw and centrifugation tests. **Conclusion:** The cocoa pod husk extract showed very strong antioxidant activity and also has sunscreen activity. It can be developed into an emulgel preparation with good physical characteristics and stability.

**Keywords:** cocoa pod husk, sunscreen, antioxidant, emulgel

#### **Abstrak**

**Pendahuluan:** Kulit buah cokelat merupakan limbah hasil pengolahan cokelat yang belum banyak dimanfaatkan. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kulit buah cokelat mengandung banyak senyawa polifenol dan flavonoid sehingga berpotensi memiliki aktivitas antioksidan dan pelindung surya. **Tujuan:** untuk menguji potensi aktivitas antioksidan dan fotoprotektif dari ekstrak etanol kulit buah cokelat secara *in vitro* dan juga untuk mengembangkan ekstrak menjadi sediaan emulgel yang memiliki karakteristik fisik dan stabilitas yang memenuhi persyaratan. **Metode:** Proses ekstraksi dari limbah kulit buah cokelat dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 70%. Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit buah cokelat dilakukan dengan metode DPPH sedangkan uji aktivitas pelindung surya dilakukan dengan metode Mansur berbasis spektrofotometri. Sediaan emulgel dikembangkan dengan minyak zaitun sebagai fasa minyak, natrium lauril sulfat dan setostearil alkohol sebagai surfaktan, dan viscolam mac 10 sebagai *gelling agent*. **Hasil:** Ekstrak etanol 70% dari kulit buah cokelat terbukti memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat yang ditandai dengan nilai  $IC_{50}$   $16,74 \pm 0,72$  ppm. Ekstrak juga berpotensi sebagai agen fotoprotektif karena memiliki kemampuan pelindung surya nilai SPF  $10,78 \pm 0,85$  (1000 ppm). Sediaan emulgel dengan ekstrak kulit buah cokelat 2% yang dihasilkan memiliki sifat fisik yang baik didasarkan pada hasil pengujian organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, viskositas, dan sifat alir. Sediaan emulgel juga stabil didasarkan pada hasil uji sentrifugasi dan *freeze thaw*. **Kesimpulan:** Ekstrak etanol

dari kulit buah cokelat diketahui memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dan juga aktivitas pelindung surya serta dapat dikembangkan menjadi sediaan emulgel yang memiliki karakteristik fisik yang sesuai.

**Kata kunci:** limbah kulit buah cokelat, antioksidan, tabir surya, emulgel

## PENDAHULUAN

Paparan sinar matahari memiliki implikasi kesehatan yang penting dan diperlukan untuk fungsi fisiologis tubuh. Akan tetapi, paparan radiasi sinar ultraviolet (UV) berlebih diketahui dapat menyebabkan berbagai efek negatif pada kulit seperti munculnya pigmentasi, eritema, penurunan elastisitas kulit, immunosupresi, penuaan dini, hingga dapat menjadi salah satu pemicu terjadinya kanker kulit (Utami dkk., 2016). Efek negatif atau berbahaya dari radiasi matahari umumnya terjadi karena adanya spektrum elektromagnetik sinar ultraviolet A/UV A (320 – 400 nm) dan UV B (290 - 320 nm) (Savoye dkk., 2018). Efek negatif dari sinar UV, terjadi karena kemampuannya untuk menginduksi spesies oksigen reaktif atau sering disebut dengan istilah *Reactive Oxygen Species* (ROS). Terbentuknya ROS dapat memicu terjadinya stress oksidatif, terutama bila antioksidan alami tubuh tidak berhasil meredam kondisi tersebut (Pizzino dkk., 2017). Kondisi stress oksidatif dapat menyebabkan kerusakan sel (misalnya peroksidasi lipid dan fragmentasi DNA), apoptosis, dan kematian sel (Baek & Lee, 2016).

Untuk mencegah efek negatif dari paparan berlebihan dari sinar UV, setidaknya bisa dilakukan dengan dua cara (Widyastuti dkk., 2016). Cara yang pertama dengan menggunakan agen fotoprotektif dalam bentuk sediaan tabir surya yang mampu melindungi kulit dengan cara memantulkan atau menyerap sinar UV. Cara yang kedua dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa antioksidan yang dapat meredam efek negatif dari pembentukan ROS akibat induksi sinar UV (Lin dkk., 2019).

Berbagai tanaman diketahui menghasilkan senyawa aktif yang mampu meredam efek buruk paparan berlebihan sinar UV. Senyawa polifenol dan flavonoid diketahui memiliki aktivitas antioksidan untuk meredam efek negatif ROS. Selain itu senyawa-senyawa tersebut diketahui mampu memberikan perlindungan terhadap kulit, dengan beraksi sebagai tabir surya kimia (*chemical sunscreen*) yang memiliki kemampuan untuk menyerap radiasi sinar UV (Huyut dkk., 2017; José dkk., 2016).

Salah satu bahan yang berasal dari alam yang diketahui mengandung senyawa fenolik yang tinggi

adalah kulit buah cokelat. Kulit buah cokelat adalah limbah yang dihasilkan pada proses pengolahan buah cokelat. Bagian kulit buahnya bisa mencapai 75% dari total buah. Saat ini limbah tersebut belum banyak dimanfaatkan di bidang kesehatan dan kosmetika (Ouattara dkk., 2020; Utami dkk., 2016). Seiring dengan tingginya tingkat produksi cokelat di Indonesia, maka jumlah limbah kulit buah cokelat juga semakin meningkat. Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah cokelat dari perkebunan di Ciamis, Jawa Barat, memiliki kadar polifenol sebesar 15,56% atau 155,6 mg GAE/g (Priani dkk., 2019). Penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah cokelat mengandung senyawa flavonoid sebesar 22,42 + 0,98 mg rutin ekivalen/g (Abdul dkk., 2014).

Untuk meningkatkan kenyamanan dan efektifitas pemakaian, kulit buah cokelat dikembangkan menjadi sediaan emulgel (Kumar dkk., 2016). Emulgel adalah salah satu jenis sediaan semisolid yang merupakan kombinasi sistem emulsi dan gel. Dibandingkan dengan sistem emulsi (krim) sediaan emulgel memiliki keuntungan diantaranya adalah stabilitas sistem emulsi yang meningkat karena peningkatkan viskositas fase air sebagai fase luar dengan keberadaan *gelling agent*. Sediaan emulgel juga diketahui mampu melekat lebih baik dibandingkan dengan sediaan krim, sehingga sesuai diaplikasikan untuk sediaan tabir surya (Sreevidya, 2019). Dibandingkan dengan sediaan gel, keuntungan dari sistem emulgel adalah mampu memfasilitasi penghantaran senyawa yang bersifat hidrofil dan hidrofob karena emulgel merupakan sistem dua fase minyak dan air (Mohite dkk., 2019).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji aktivitas antioksidan dan pelindung surya (fotoprotektif) dari ekstrak etanol 70% kulit buah cokelat secara *in vitro*. Ekstrak kulit buah cokelat selanjutnya dikembangkan menjadi sediaan emulgel yang memiliki karakteristik fisik yang baik dengan aktivitas sebagai antioksidan dan tabir surya.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan utama pada penelitian ini adalah limbah kulit buah cokelat yang diperoleh dari perkebunan cokelat di

Ciamis, Jawa Barat pada Desember 2018. Selain itu juga digunakan etanol 70% (bratachem), DPPH (sigma-aldrich), minyak zaitun (Lansida), propilenglikol (Bratachem), viscolam Mac 10 (Lamberty Spa), natrium lauril sulfat, setostearil alkohol, dan trietanolamin (TEA).

**Alat**

Alat dan instrumen yang digunakan pada studi ini adalah *hot plate* (Cimarec, Thermo Scientific), timbangan analitik (Metler Toledo AL 204), *rotary evaporator* (Buchi), *ultraturax* (IKA T25, digital), *stirrer* (IKA RW 20, digital), viscometer *Brookfield* (DV-I Prime), dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu-UV mini-1240).

**Metode**

**Penyiapan ekstrak kulit buah coklat**

Limbah kulit buah coklat dikeringkan pada suhu 40 – 50°C menggunakan lemari pengering hingga mencapai kadar air simplisia < 10% (pada penelitian ini kadar air simplisia kering 8%). Simplisia kering selanjutnya diserbukkan dan diekstraksi menggunakan etanol 70% pada perbandingan pelarut 1 : 3 dengan tiga kali pengulangan, masing-masing 24 jam. Ekstrak cair selanjutnya dikeringkan dengan *vacuum rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental, dan selanjutnya dipekatkan dengan *waterbath*. Terhadap ekstrak selanjutnya dilakukan penapisan fitokimia menggunakan prosedur pengujian baku (Rachmawaty dkk., 2018).

**Uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah coklat**

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Dibuat satu seri larutan ekstrak dalam etanol p.a pada seri konsentrasi ekstrak 25, 20, 15, 10, dan 5 ppm. Larutan ekstrak ditambahkan larutan DPPH 60 ppm (dalam etanol p.a) dengan perbandingan 1 : 1. Campuran diaduk menggunakan vortex selama 1 menit dan selanjutnya diinkubasi 30 menit pada suhu ruangan. Terhadap sampel selanjutnya dilakukan analisis dengan spektrofotometer UV- Vis. Nilai absorbansi dari sampel diukur pada panjang gelombang maksimum dari DPPH yang sudah ditentukan sebelumnya yaitu 517 nm, untuk mendapatkan nilai absorbansi uji. Untuk perhitungan % inhibisi, dilakukan juga pengukuran absorbansi larutan DPPH dengan penambahan etanol 1 : 1 tanpa penambahan ekstrak (Abs DPPH) setelah inkubasi 30 menit. Nilai % inhibisi senyawa uji dihitung melalui rumus sebagai berikut (1) (Priani dkk., 2020):

$$\% \text{ Inhibisi} = \left( \frac{\text{Abs DPPH} - \text{Abs Uji}}{\text{Abs DPPH}} \right) \times 100\% \quad (1)$$

Nilai konsentrasi hambat 50% atau IC<sub>50</sub> diperoleh dengan membuat kurva % inhibisi terhadap konsentrasi ekstrak. IC<sub>50</sub> adalah nilai konsentrasi ekstrak yang memberikan hambatan DPPH sebanyak 50% (Islam dkk., 2020).

**Uji aktivitas tabir surya ekstrak kulit buah coklat**

Dibuat larutan ekstrak dalam etanol pada konsentrasi ekstrak 1000 ppm. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi pada rentang panjang gelombang 290 - 320 nm pada setiap interval 5 nm. Nilai *Sun Protection Factor* (SPF) dihitung dengan persamaan Mansur (2) (Abdassah dkk., 2015):

$$SPF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda) \quad (2)$$

Keterangan:

EE = spectrum yang menyebabkan eritema

I = intensitas spectrum

Abs = Absorbansi

CF = faktor koreksi (10)

**Formulasi sediaan emulgel kulit buah coklat**

Sediaan emulgel dibuat berdasarkan formula emulgel yang sudah dikembangkan sebelumnya namun dengan modifikasi jenis *gelling agent* yang digunakan, yakni viscolam Mac-10 (Tabel 1).

**Tabel 1.** Formulasi sediaan emulgel kulit buah coklat

| Bahan                 | Kadar (%) |
|-----------------------|-----------|
| Ekstrak               | 2         |
| Minyak zaitun         | 20        |
| Natrium lauril sulfat | 0,5       |
| Setostearil alkohol   | 4,5       |
| Viscolam Mac 10       | 5         |
| TEA                   | qs        |
| Metil paraben         | 0,02      |
| Propil paraben        | 0,18      |
| Tokoferol             | 0,03      |
| Propilenglikol        | 15        |
| Aquadest ad           | 100       |

Sediaan dibuat dengan memanaskan fase minyak (minyak zaitun dalam setostearil alkohol) dan fase air (natrium lauril sulfat dalam aquadest) sampai suhu 60°C - 70°C. Selanjutnya kedua fase dicampur dan diaduk pada kecepatan 4000 rpm menggunakan *high speed homogenizer* (ultra turrax), selama 15 menit hingga terbentuk masa emulsi. Ke dalam campuran ditambahkan ekstrak, tokoferol, propil paraben, dan metil paraben, yang sudah dilarutkan dalam propilenglikol. Lakukan pengadukan kembali dengan menggunakan *high speed homogenizer* selama 15 menit dengan kecepatan 4.000 rpm. Selanjutnya *viscolam* ditambahkan ke dalam campuran dan dilakukan netralisasi dengan penambahan TEA sedikit demi

sedikit hingga pH sediaan mencapai 6 – 7. Terakhir sediaan dihomogenkan menggunakan stirrer pada kecepatan 300 rpm selama 15 menit untuk membentuk sistem emulgel (Sabri dkk., 2016).

#### Evaluasi fisik sediaan emulgel kulit buah cokelat

Sediaan diuji sifat fisiknya meliputi organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, sifat alir, dan daya sebar. (Priani dkk., 2019)

#### Organoleptis dan homogenitas

Uji organoleptis dilakukan dengan melakukan pengamatan terhadap penampilan fisik sediaan emulgel kulit buah cokelat secara visual sedangkan homogenitas dilakukan dengan mengoleskan sediaan emulgel pada kaca preparat selanjutnya ditempatkan preparat kaca lainnya di atasnya, dan diamati keberadaan partikel kasar pada sediaan.

#### Uji pH

pH sediaan emulgel kulit buah cokelat ditentukan dengan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi.

#### Uji daya sebar berukuran

0,5 g sediaan diletakkan di selembar kaca berukuran 20x20 cm dan selanjutnya di atasnya diletakkan kaca lain dan dibiarkan selama 1 menit. Setelahnya ditambahkan beban 50 gram dan sistem selanjutnya dibiarkan selama 1 menit kemudian diukur diameternya hingga konstan (Tambunan & Sulaiman, 2018).

#### Uji viskositas dan sifat alir

Pengujian viskositas dan sifat alir dari sediaan emulgel yang umumnya merupakan sistem non newton, dilakukan dengan menggunakan viscometer Brookfield (DV-1 Prime). Viskositas diukur pada kecepatan 100 rpm. Untuk menentukan sifat alir viskositas sediaan dilakukan pengukuran viskositas pada berbagai nilai rpm yakni 10, 20, 50, dan 100 rpm. Kemudian dilakukan sebaliknya 100, 50 20 dan 10 rpm untuk melihat apakah sifat alir dari sediaan emulgel termasuk kategori sifat alir dipengaruhi waktu atau tidak (Berdey & Voyt, 2016).

#### Uji stabilitas sediaan emulgel kulit buah cokelat

Uji stabilitas dilakukan dengan uji sentrifugasi dan *freeze thaw* (Hamsinah dkk., 2016).

#### Uji sentrifugasi

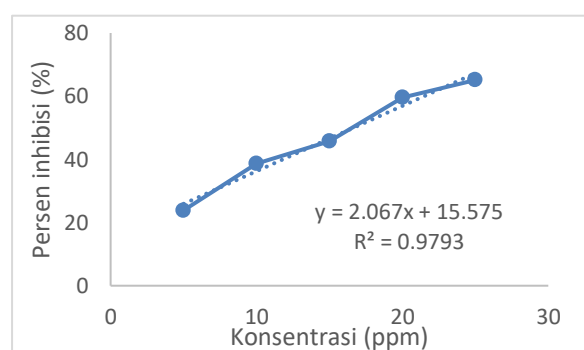
Sediaan emulgel disentrifuga pada kecepatan putar 3800 rpm selama 5 jam. Kemudian diamati ada tidaknya pemisahan fase (Hamsinah dkk., 2016).

#### Uji *freeze thaw*

Sediaan emulgel ditempatkan pada suhu 4°C selama minimal 24 jam kemudian dipindahkan suhu 40°C selama minimal 24 jam (1 siklus). Uji dilakukan selama 6 siklus. Kemudian diamati ada tidaknya pemisahan fase (Hamsinah dkk., 2016).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Limbah kulit buah cokelat yang diketahui mengandung senyawa polifenol dan flavonoid akan dikembangkan menjadi sediaan kosmetika alami. Untuk menarik kandungan senyawa di dalamnya dilakukan proses ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 70%. Pemilihan metode maserasi dilakukan untuk mempertahankan stabilitas dari senyawa-senyawa aktif dan penggunaan pelarut etanol 70% didasarkan penelitian sebelumnya yang diketahui mampu menghasilkan rendemen ekstrak yang lebih baik (Rachmawaty dkk., 2018). Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dilakukan penapisan fitokimia dan hasilnya diketahui bahwa ekstrak etanol kulit buah cokelat mengandung senyawa alkaloid, tannin, flavonoid, kuinon, polifenol, saponin, terpenoid, monoterpen dan seskuiterpen. Senyawa metabolit sekunder tersebut seperti flavonoid dan polifenol yang pada akhirnya akan mendukung aktivitas dari ekstrak.



**Gambar 1.** Kurva uji aktivitas antioksidan ekstrak

Uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah cokelat dilakukan dengan metode DPPH. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak yang dihasilkan, memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, yang ditandai dengan nilai  $IC_{50}$   $16,74 \pm 0,72$  ppm ( $< 50$  ppm) (Gambar 1). Aktivitas antioksidan dari kulit buah cokelat diketahui muncul karena adanya senyawa fenolat seperti asam fenolat, flavonoid, juga senyawa polifenol lainnya. Adanya asam sitrat dan asam malat dalam kulit buah cokelat juga diketahui mendukung aktivitas antioksidannya. Pada penelitian lainnya yang juga melakukan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit buah cokelat namun menggunakan pelarut pengekstrak yang berbeda yakni etanol 80% memberikan hasil nilai  $IC_{50}$  26,1 ppm, yang juga tergolong ke dalam aktivitas antioksidan sangat kuat (Abdul dkk., 2014). Adanya sedikit perbedaan pada nilai  $IC_{50}$  dapat dimungkinkan karena perbedaan jenis pelarut yang digunakan, yang bisa berpengaruh pada polaritas dan juga jenis serta jumlah senyawa bioaktif yang terekstrak.



Selanjutnya terhadap ekstrak dilakukan uji aktivitas pelindung surya. Pengujian dilakukan secara *in vitro* dengan melihat absorbansi sampel pada panjang gelombang sinar UV B yang diwakili dengan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 290 - 320 nm. Pengujian ini sesuai untuk menguji bahan/sediaan tabir surya kimia (*chemical sunscreen*). Tabir surya kimia melindungi tubuh dari efek negatif sinar UV dengan cara menyerap radiasi yang sampai ke permukaan kulit (Adamson & Shinkai, 2020). Tabir surya kimia umumnya merupakan senyawa aromatik yang terkonjugasi dengan gugus karbonil. Struktur ini memungkinkan molekul untuk menyerap sinar UV berenergi tinggi dan melepaskan sebagai sinar berenergi lebih rendah, sehingga mencegah sinar UV merusak DNA atau sel kulit (Geoffrey dkk., 2019). Senyawa bahan alam seperti golongan flavonoid dapat memberikan efek tersebut, karena gugus aromatik yang dimilikinya. Senyawa flavonoid memiliki struktur dasar yang terdiri dari dua gugus aromatik yang dihubungkan oleh adanya jembatan karbon membentuk struktur C6-C3-C6 (Panche dkk., 2016).

Hasil uji aktivitas tabir surya menunjukkan bahwa pada konsentrasi yang diujikan, ekstrak etanol kulit buah cokelat memiliki nilai SPF  $10,78 \pm 0,85$ , dengan data perhitungan diperlihatkan pada Tabel 2. Hasil tersebut termasuk kategori perlindungan maksimum (konsentrasi 1000 ppm) karena memiliki nilai SPF pada rentang 8 - 15 (Geraldine & Hastuti, 2018). Penjelasan tentang nilai EE, I, Abs, dan CF bisa dilihat di persamaan (2).

**Tabel 2.** Hasil pengujian tabir surya ekstrak kulit buah cokelat

| Panjang gelombang | EE <sub>XI</sub> | Absorbansi* (rata-rata) | EE <sub>XI</sub> A <sub>X</sub> CF |
|-------------------|------------------|-------------------------|------------------------------------|
| 290               | 0,015            | 1,87                    | 0,28                               |
| 295               | 0,081            | 1,31                    | 1,06                               |
| 300               | 0,287            | 1,08                    | 3,09                               |
| 305               | 0,372            | 1,00                    | 3,70                               |
| 310               | 0,186            | 0,94                    | 1,75                               |
| 315               | 0,083            | 0,91                    | 0,75                               |
| 320               | 0,018            | 0,88                    | 0,16                               |
| Total (Nilai SPF) |                  |                         | 10,78                              |

Setelah terbukti bahwa ekstrak kulit buah cokelat potensial untuk dikembangkan menjadi sediaan kosmetika karena memiliki efek antioksidan dan tabir surya, maka dilanjutkan dengan pengembangan ekstrak menjadi sediaan emulgel. Pemilihan sediaan emulgel didasarkan pada stabilitasnya yang lebih baik dibandingkan dengan sediaan krim karena peningkatan viskositas fase luar (fase air) oleh adanya *gelling agent*.

Selain itu sediaan emulgel diketahui mampu menghasilkan daya lekat yang lebih baik akibat penambahan *gelling agent* sehingga lebih sesuai untuk sediaan tabir surya. Sediaan emulgel juga bisa memfasilitasi penghantaran senyawa hidrofil dan hidrofob seperti yang terdapat pada ekstrak kulit buah cokelat yang masih merupakan sistem multi komponen (Sah dkk., 2017). Selanjutnya terhadap sediaan emulgel, ditambahkan ekstrak kulit buah cokelat sebagai zat aktif pada konsentrasi 2%. Nilai ini ditingkatkan dari nilai IC<sub>50</sub> antioksidan ekstrak. Peningkatan kadar bahan aktif dalam sediaan dari nilai IC<sub>50</sub> nya umum dilakukan termasuk untuk senyawa aktif kimia seperti alfa tokoferol dan asam askorbat, dengan tujuan untuk meningkatkan efektifitasnya (Aryani, 2015).

Untuk formula basis emulgel yang digunakan merujuk pada formula yang sudah dikembangkan sebelumnya, yang diketahui menghasilkan karakteristik sediaan yang baik dan stabil (Priani dkk., 2014). Modifikasi dilakukan pada *gelling agent* yang digunakan yakni viscolam mac 10. Penggunaan viscolam memiliki beberapa keuntungan yakni bentuknya yang cair sehingga mempermudah pencampuran dan juga dapat berfungsi sebagai pelembab kulit atau emollient sehingga memberikan nilai tambah untuk penghantaran topikal (Luliana dkk., 2019). Hasil evaluasi sediaan emulgel ditampilkan pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil evaluasi sediaan emulgel

| Parameter              | Hasil   |
|------------------------|---|
| Organoleptis           | semisolida, tidak berbau, berwarna kecoklatan |
| Homogenitas            | Homogen                                       |
| pH                     | $7,05 \pm 0,02$                               |
| Daya sebar             | $3,06 \pm 0,12$ cm                            |
| Viskositas (100 rpm)   | $29493 \pm 907$ cps                           |
| Sifat alir             | Pseudoplastis                                 |
| Uji sentrifuga (5 jam) | Stabil  |
| Uji <i>freeze thaw</i> | Stabil  |

Dari hasil tersebut, terlihat bahwa sediaan memiliki karakteristik yang baik, ditandai dengan nilai pH sesuai dengan batas pH sediaan topikal (4,5 - 7), nilai daya sebar sesuai untuk sediaan semisolida (3 - 7), dengan sifat alir pseudoplastis (Garg dkk., 2002). Sifat alir pseudoplastis sesuai untuk pemakaian topikal, dimana ketika sediaan dioleskan akan terjadi penurunan viskositas sehingga mempermudah penyebarannya (Berdey & Voyt, 2016).

Berdasarkan hasil uji stabilitas diketahui bahwa sediaan memiliki stabilitas yang baik yang ditandai

dengan tidak adanya *creaming* ataupun pemisahan fase pada uji sentrifugasi ataupun *freeze thaw*. Hal tersebut menggambarkan bahwa sediaan dapat mempertahankan stabilitasnya akibat pengaruh gaya gravitasi ataupun pengaruh perubahan suhu (Mustarichie & Gozali, 2019).

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol 70% dari kulit buah cokelat memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat yang ditandai dengan nilai  $IC_{50}$   $16,74 \pm 0,72$  ppm dan juga memiliki aktivitas pelindung surya dengan nilai SPF  $10,78 \pm 0,85$ , pada konsentrasi ekstrak 1000 ppm. Ekstrak etanol kulit buah cokelat telah berhasil dikembangkan menjadi sediaan emulgel dengan sifat fisik yang baik berdasarkan pengujian organoleptis, homogenitas, daya sebar, pH, viskositas, dan sifat alir. Sediaan emulgel ekstrak kulit buah cokelat juga stabil berdasarkan uji sentrifugasi dan *freeze thaw*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada LPPM UNISBA atas hibah penelitian dosen utama yang diberikan sehingga proses penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah, M., Aryani, R., Surachman, E. & Muchtaridi, M. (2015). In-Vitro Assessment of Effectiveness and Photostability Avobenzone in Cream Formulations by Combination Ethyl Ascorbic Acid and Alpha Tocopherol Acetate. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*; 5; 70-74.
- Abdul, K. A., Azlan, A., Ismail, A., Hashim, P., Abd, G. S. S., Zainudin, B. H. & Abdullah, N. A. (2014). Phenolic Composition, Antioxidant, Anti-Wrinkles and Tyrosinase Inhibitory Activities of Cocoa Pod Extract. *BMC Complementary and Alternative Medicine*; 14; 1-113.
- Adamson, A. S. & Shinkai K. (2020) Systemic Absorption of Sunscreen: Balancing Benefits with Unknown Harms. *JAMA*; 323; 223-224.
- Aryani, R. (2015). Formulasi Dan Uji Stabilitas Krim Kombinasi Alfa Tocoferol Asetat dan Etil Vitamin C Sebagai Pelembab Kulit. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*; 14; 38-45.
- Baek, J. & Lee, M. G. (2016). Oxidative Stress and Antioxidant Strategies in Dermatology. *Redox Report*; 21; 164-169.
- Berdey, I. I. & Voyt, O. I. (2016). Rheological Properties of Emulgel Formulations Based on Different Gelling Agent. *The Pharma Innovation Journal TPI*; 5; 76-79.
- Garg, A., Aggarwal, D., Garg, S. & Singla, A. K. (2002). Spreading of Semisolid Formulations: An update. *Pharmaceutical Technology North America*; 26; 84-105.
- Geoffrey, K., Mwangi, A. N. & Maru, S. M. (2019). Sunscreen Products: Rationale for Use, Formulation Development and Regulatory Considerations. *Saudi Pharmaceutical Journal*; 27; 1009-1018.
- Geraldine, E. T. & Hastuti, E. D. (2018). Formulation of Sunscreen Cream of Parijoto Fruit Extract (*Medinilla speciosa* blume) and In Vitro Spf Value Test. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Community*; 15; 92-98.
- Hamsinah, H., Darijanto, S. D. & Mauluddin, R. (2016). Uji Stabilitas Formulasi Krim Tabir Surya Serbuk Rumput Laut (*Eucheuma cottonii* doty). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*; 3; 155-160.
- Huyut, Z., Beydemir, Ş. & Gülçin, I. (2017). Antioxidant and Antiradical Properties of Selected Flavonoids and Phenolic Compounds. *Biochemistry Research International*; 2017; 1-8.
- Islam, M. Z., Cho, D. K. & Lee, Y. T. (2020). Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Tea Infusion Prepared from Whole And Ground Medicinal Herb Parts. *CYTA - Journal of Food*; 18; 3003-3011.
- José, M. T. de A. F., Pedrita, A. S., Emanuella, C. V. P., Raimundo, G. de O. J., Fabrício, S. S., Jackson, R. G. da S. A., Larissa, A. R., Xirley, P. N. & Edigênia, C. da C. A. (2016). Flavonoids as Photoprotective Agents: A Systematic Review. *Journal of Medicinal Plants Research*; 10; 848-864.
- Kumar, D., Singh, J., Antil, M. & Kumar, V. (2016). Emulgel-Novel Topical Drug Delivery System - A Comprehensive Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*; 7; 4733-42.
- Lin, Q., Xu Xu, R. H. J., Yang, N., Karim, A. A., Loh, X. J. & Zhang, K. (2019). UV Protection and Antioxidant Activity of Nanodiamonds and Fullerenes for Sunscreen Formulations. *ACS Applied Nano Materials*; 2; 7604-7616.
- Luliana, S., Desnita, R. & Mufliha, U. (2019). The Influence of Menthol in Ethanol Extract of Meniran Gel (*Phyllanthus niruri* L.) as a Hair Growth Promoter in Male Wistar Rats. *Majalah Obat Tradisional*; 24; 1-8.

- Mohite, S. V., Salunkhe, A. K. & Sudke, S. G. (2019). Emulgel: A Novel Approach for Hydrophobic Drugs. *American Journal of PharmTech Research*; 7; 43-60.
- Mustarichie, R. & Gozali, D. (2019). Formulation and Evaluation of Alpha Arbutin Skin Lightening Cream Using Polyacrylate Base by Cold Process. *International Journal of Applied Pharmaceutics*; 11; 100-105.
- Ouattara, L. Y., Kouassi, E. K. A., Soro, D., Soro, Y., Yao, K. B., Adouby, K., Drogui, A. P., Tyagi, D. R. & Aina, P. M. (2020). Cocoa Pod Husks as Potential Sources of Renewable High-Value-Added Products: A Review of Current Valorizations and Future Prospects. *Bioresources*; 16; 1988-2020.
- Panche, A. N., Diwan, A. D. & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An Overview. *Journal of Nutritional Science*; 5; 1-15.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D. & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*; 2017; 1-13.
- Priani, S. E., Aprilia, S., Aryani, R. & Purwanti, L. (2019). Antioxidant and Tyrosinase Inhibitory Activity of Face Serum Containing Cocoa Pod Husk Phytosome (*Theobroma cacao* L.). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*; 9; 110-115.
- Priani, S. E., Humanisya, H. & Darusman, F. (2014). Development of Sunscreen Emulgel Containing Cinnamomum Burmannii Stem Bark Extract. *International Journal of Science and Research*; 3; 2338-2341.
- Priani, S. E., Lestari, I. A., & Lestari, F. (2019). Pengembangan Sediaan Emulgel Mengandung Minyak Biji Anggur (*Vitis vinifera* L.) dan Uji Aktivitas Antiluka Terhadap Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS): Ilmu Farmasi dan Kesehatan*; 4; 66-76.
- Priani, S. E., Mutiara, R. M. & Mulyanti, D. (2020). The Development of Antioxidant Peel-Off Facial Masks from Cinnamon Bark Extract (*Cinnamomum burmannii*). *Pharmaciana*; 10; 69-76.
- Rachmawaty, Mu'Nisa, A., Hasri, Pagarra, H., Hartati, & Maulana, Z. (2018). Active Compounds Extraction of Cocoa Pod Husk (*Theobroma cacao* L.) and Potential as Fungicides. *Journal of Physics: Conference Series*; 1028; 1-8.
- Sabri, H. S., Ali, W. K., Abdullah, B. H. & Al-Ani, W. M. K. (2016). Formulation Design and Evaluation of Anti-Microbial Activity of Emulgel Containing Essential Oil of *Myrtus communis* L. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*; 40; 271-277
- Sah, S. K., Badola, A. & Nayak, B. K. (2017). Emulgel: Magnifying the Application of Topical Drug Delivery. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*; 5; 25-33.
- Savoie, I., Olsen, C. M., Whiteman, D. C., Bijon, A., Wald, L., Dartois, L., Clavel-Chapelon, F., Boutron-Ruault, M. C. & Kvaskoff, M. (2018). Patterns of Ultraviolet Radiation Exposure and Skin Cancer Risk: the E3N-SunExp Study. *Journal of Epidemiology*; 28; 27-33.
- Sreevidya, V. S. (2019). An Overview on Emulgel. *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*; 9; 92-97.
- Tambunan, S. & Sulaiman, T. N. S. (2018). Formulasi Gel Minyak Atsiri Sereh dengan Basis HPMC dan Karbopol. *Majalah Farmaseutik*; 14; 87-95
- Utami, R. R., Armunanto, R., Rahardjo, S., & Supriyanto. (2016). Effects of cocoa bean (*Theobroma cacao* L.) Fermentation on Phenolic Content, Antioxidant Activity and Functional Group of Cocoa Bean Shell. *Pakistan Journal of Nutrition*; 15; 948-952.
- Widyastuti, W., Kusuma, A. E., Nurlaili, N. & Sukmawati, F. (2016). Antioxidant and Sunscreen Activities of Ethanol Extract of Strawberry Leaves (*Fragaria x ananassa* A.N. Duchesne). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*; 3; 19-24.

## Molecular Docking of Mangostin and Sinensetin Derivatives on SUR1-Pancreatic $K_{ATP}$ Channel Target as Antidiabetic

Intan Kris Prasetyanti<sup>1</sup>, Sukardiman<sup>2\*</sup>, Suharjono<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Magister Program of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

<sup>2</sup>Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

<sup>3</sup>Department of Practical Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

\*Corresponding author: sukardiman@ff.unair.ac.id

Submitted: 22 March 2021

Accepted: 25 May 2021

Published: 30 November 2021

### Abstract

**Background:** Diabetes Mellitus (DM) is a complex chronic disease characterized by increased blood glucose. The incidence of this disease is rising, especially type 2 diabetes which is caused by insulin resistance in the body. SUR1-Pancreatic  $K_{ATP}$  Channel is a receptor as an antidiabetic target because its inhibition process can increase insulin production so that it can reduce blood glucose in people with type 2 diabetes. **Objective:** This study aims to identify the *in-silico* activity of the SUR1-Pancreatic  $K_{ATP}$  Channel macromolecules. **Methods:** Identification of macromolecular binding sites using Protein Plus software, then carried out molecular docking using AutoDock software, where the formed molecular interactions are further identified using the BIOVIA Discovery Studio software. **Results:** After determining the macromolecular binding site, the RMSD value was 1.253, allowing for further molecular docking. Molecular docking showed that the Ligands of mangostin ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -mangostin) and sinensetin derivatives had a good affinity, namely  $\alpha$ -mangostin -6.31 kcal/mol;  $\beta$ -mangostin -5.78 kcal/mol;  $\gamma$ -mangostin -6.17 kcal/mol and sinensetin -4.75 kcal/mol. **Conclusion:** The affinity sequence in the docking process for the SUR1  $K_{ATP}$  channel macromolecules is  $\alpha$ -mangostin >  $\gamma$ -mangostin >  $\beta$ -mangostin > sinensetin. The highest affinity for the docking process on the macromolecule SUR1  $K_{ATP}$  channel was  $\alpha$ -mangostin with a value of  $\Delta G$  -6.31 kcal/mol  $K_i$  23.65  $\mu M$ .

**Keywords:** mangostin derivatives, sinensetin, *in-silico* SUR1  $K_{ATP}$  channel, antidiabetes

### Abstrak

**Pendahuluan:** Penyakit Diabetes Melitus (DM) adalah penyakit kronik dan kompleks ditandai dengan peningkatan glukosa darah. Angka kejadian penyakit ini semakin meningkat, terutama DM tipe 2 yang disebabkan karena resistensi insulin dalam tubuh. SUR1-Pancreatic  $K_{ATP}$  Channel merupakan reseptor sebagai target antidiabetes karena dengan proses penghambatannya mampu meningkatkan produksi insulin sehingga dapat menurunkan glukosa darah pada penderita DM tipe 2. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi aktivitas secara *in silico* terhadap makromolekul SUR1-Pancreatic  $K_{ATP}$  Channel (reseptor sulfonilurea) dari turunan mangostin dan sinensetin. **Metode:** Identifikasi binding site makromolekul dengan menggunakan software Protein Plus kemudian dilakukan docking molekuler menggunakan software AutoDock dimana interaksi molekuler yang terbentuk selanjutnya diidentifikasi lebih lanjut menggunakan software BIOVIA Discovery Studio. **Hasil:** Berdasarkan identifikasi binding site makromolekul didapatkan nilai RMSD 1,253 Å sehingga dapat dilakukan docking molekuler lebih lanjut. Docking molekuler menunjukkan bahwa Ligand dari turunan mangostin ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -mangostin) dan sinensetin memiliki afinitas docking molekuler yang baik yaitu  $\alpha$ -mangostin -6,31 kkal/mol;  $\beta$ -mangostin -5,78 kkal/mol;  $\gamma$ -mangostin -6,17 kkal/mol dan sinensetin -4,75 kkal/mol. **Kesimpulan:** Urutan afinitas

pada proses docking terhadap makromolekul SUR1  $K_{ATP}$  channel adalah  $\alpha$ -mangostin >  $\gamma$ -mangostin >  $\beta$ -mangostin > sinensetin. Afinitas tertinggi proses docking pada makromolekul SUR1  $K_{ATP}$  channel adalah  $\alpha$ -mangostin dengan nilai  $\Delta G$  -6,31 kkal/mol  $K_i$  23,65  $\mu$ M.

**Kata kunci:** turunan mangostin, sinensetin, *in silico*, SUR1  $K_{ATP}$  channel, antidiabetes

## INTRODUCTION

$K_{ATP}$  channel (ATP-sensitive potassium channels) is an ATP binding cassette (ABC) transporter complex consisting of 4 Kir6 channels and four sulfonylurea receptor (SUR1) subunits. It is important as an antidiabetic target because it has a good binding affinity with sulfonylurea and glinide inhibitors. In pancreatic beta cells,  $K_{ATP}$  channels are stimulated by the intracellular activity of ATP and ADP. When glucose enters the pancreatic beta cells through GLUT-1 (Glucose Transporter-1) there is glucose metabolism or an increase in the ratio of ATP and ADP so that,  $K_{ATP}$  channels are closed, the membrane depolarizes and  $Ca^{2+}$  enters, which stimulates insulin granules and insulin release (Martin *et al.*, 2017; Ding *et al.*, 2019).

Diabetes mellitus (DM) is a complex chronic disease with hyperglycemia, glucose levels above average, and an increasing number of sufferers. This is characterized by insulin deficiency or reduced insulin sensitivity, followed by increased blood glucose and disorders of carbohydrate, protein, and lipid metabolism (Ibrahim *et al.*, 2019). The potential of  $\alpha$ -mangostin as an antidiabetic was proven by administering  $\alpha$ -mangostin isolated from mangosteen pericarpium extract to streptozotocin (STZ) induced rats (Lee *et al.*, 2018). The administration of  $\gamma$ -mangostin also showed reducing blood glucose in STZ-induced mice (Husen *et al.*, 2019). Whereas  $\beta$ -mangostin, a mangostin derivative, also has the potential to reduce blood

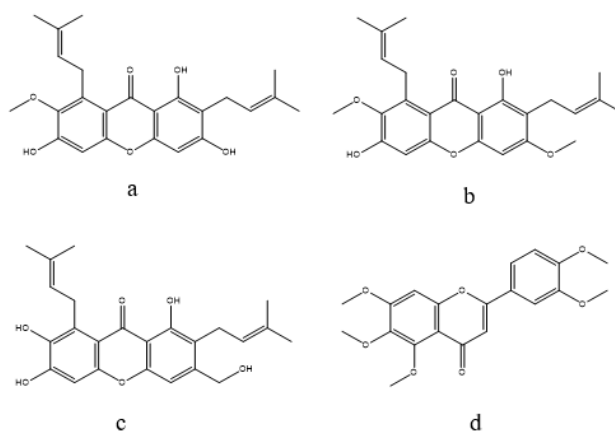
glucose. The potency of sinensetin as an antidiabetic can inhibit the activity of os-glucosidase and  $\alpha$ -amylase enzymes. The inhibition of these two enzymes controls glucose absorption in type 2 diabetes mellitus (Mohamed *et al.*, 2012).

Molecular docking is an in-silico study with computational methods to provide information about the intermolecular interactions of proteins, nucleic acids, lipids, and ligands. The aim is to optimize the formation of receptor and ligand bonds and obtain a picture of the orientation of the receptors and ligands with minimal free energy (Muchtari *et al.*, 2018). This study shows the potential of several Indonesian herbal compounds, namely mangostin derivatives ( $\alpha$ ,  $\beta$ , mang-mangostin) and sinensetin through the molecular docking method on the target SUR1-Pancreatic  $K_{ATP}$  Channel. The performance of docking of these herbal compounds will be compared with the performance of Repaglinide docking as a cocrystal ligand, considering that its working mechanism is to stimulate and increase insulin production in patients with type 2 diabetes.

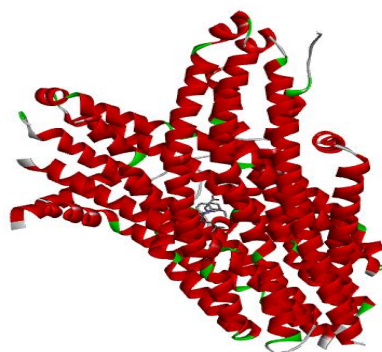
## MATERIALS AND METHODS

### Materials

2-dimensional (2D) structure of mangostin ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -mangostin) and sinensetin (Figure 1) derivatives, 3-dimensional (3D) structure of mangostin derivatives ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -mangostin), sinensetin, macromolecules (Figure 2) and Repaglinide.



**Figure 1.** 2D structure of (a)  $\alpha$ -mangostin, (b)  $\beta$ -mangostin, (c)  $\gamma$ -mangostin, (d) sinensetin



**Figure 2.** 3D structure of the SUR1-pancreatic  $K_{ATP}$  channel macromolecule which binds to repaglinide cocrystal ligands (PDB: 6JB3)

### Tools

The hardware used is a computer with an Intel (R) Celeron (R) CPU 847 @ 1.10GHz processor specification, 64-bit operating system, 4.00 GB RAM with Windows® 8. The software used is ChemDraw 20.0, Chem3D 20.0, AutoDockTools 1.5.6 (The Scripps Research Institute, USA), ProteinPlus online tool (<https://proteins.plus/>), Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>), BIOVIA Discovery Studio 2020.

### Method

#### Ligand preparation

The ligands were drawn in 2D first in the ChemDraw 20.0 program which was then converted into 3D in the Chem3D 20.0 program and had undergone structural optimization. Then stored in the form of mol2. The ligands are converted to pdbqt format through the AutoDockTools 1.5.6 program and removed water molecules, increasing the charge and adjusting the torque.

#### Identify the active site areas of protein macromolecules

The macromolecule's active site is identified via the Protein Plus site (<https://proteins.plus/>) by entering the macromolecule in.pdb format, which is then automatically that the active site where the ligand is attached to the receptor can be identified. The active site of the attachment is in the form of a pocket that has the highest drug score.

#### Protein macromolecule preparation

Receptors are downloaded in .pdb format from the PDB website (<https://www.rcsb.org>). The SUR1-Pancreatic  $K_{ATP}$  Channel macromolecules are downloaded and then prepared in AutoDockTools1.5.6 to remove unused receptor parts, cocrystal ligands, water molecules, repair lost atoms, and additional charges. Then the file is saved in .pdbqt format.

#### Validation of the docking method

P-ISSN: 2406-9388  
E-ISSN: 2580-8303

The docking process begins with the validation of the cocrystal ligand docking with the receptor. It is performed as a docking protocol used to predict the position between ligand and receptor interactions. The size and coordinates of the cocrystal ligand grid box position at the receptor are determined for further use in the ligand docking process. The RMSD value obtained is  $< 2\text{\AA}$ , then the molecular docking protocol can be accepted or declared valid (Zubair *et al.*, 2016).

#### Molecular docking

Molecular docking between the test ligand and the receptor was carried out using the AutoDockTools 1.5.6 program. The docking process is carried out in the same way as in the docking method validation process. The molecular docking process can be carried out using the grid box's exact size and position coordinates as the cocrystal ligand.

#### Analysis of molecular docking results

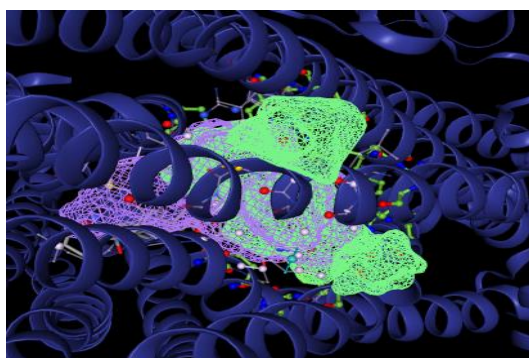
The main parameters in the molecular docking process using AutoDockTools 1.5.6 are the Estimated Free Energy of Binding ( $\Delta G$ ) score, Inhibition Constant ( $K_i$ ), amino acid residues, and the type of bond. The  $\Delta G$  and  $K_i$  scores of the test ligands were compared with the cocrystal Repaglinide ligand; if the  $\Delta G$  scores were more negative and the  $K_i$  scores were lower, they indicated higher ligand affinity. Amino acid residues and bond types were also compared using visualization with BIOVIA's Discovery Studio Visualizer program.

## RESULTS AND DISCUSSION

Steps can be taken to design and develop herbal ingredients into antidiabetic dosage forms with specific targets and high selectivity for antidiabetic therapy by exploring the potential of natural ingredients by extracting and isolating methods from herbal ingredients whose benefits are known empirically, the molecular structure is known, and its biological activity. Compounds that have antidiabetic activity are mangostin derivatives ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ - mangostin) and

sinensetin which show a decrease in blood glucose in streptozotocin (STZ)-induced experimental animals (Lee *et al.*, 2018; Husen *et al.*, 2019; Mohamed *et al.*, 2012). Research using a molecular docking simulation approach using a computer with a specific program can carry out drug discovery studies, where it can reduce the cost and time required for drug discovery in general as it is known that the drug discovery process is expensive and time-consuming (Geldenhuis *et al.*, 2006).

Macromolecules are prepared by removing other unused receptor parts such as chains other than those used for ligand docking, removing all existing cocrystal ligands so as not to interfere with the molecular docking process, removing water molecules, adding polar hydrogen, repairing lost atoms, and adding a charge. These steps need to be prepared to ensure that the docking of molecules on macromolecules can produce good affinity and form stable interactions. In Figure 3 we can know the active site of the SUR1-pancreatic K<sub>ATP</sub> Channel macromolecular pocket. The results of the identification of the active site of macromolecules were carried out on the Protein Plus online tool by entering the macromolecule format. Å (Zubair *et al.*, 2016).



**Figure 3.** The identification results of the active site of the SUR1-pancreatic K<sub>ATP</sub> Channel macromolecular pocket on the protein plus online tool. The active site of the pocket (green color) of the native repaglinide ligand

The docking process begins with using a cocrystal ligand, in this case, Repaglinide, which is also used as a standard type-2 antidiabetic drug at the SUR1-Pancreatic K<sub>ATP</sub> Channel receptor. The results of the interaction between Repaglinide and the receptor produce energy of binding ( $\Delta G$ ) -7.63 kcal/mol and an estimated inhibition constant (K<sub>i</sub>) 2.54  $\mu M$ , the interaction with the receptor produces 2 hydrogen bonds to the amino acid residue Asn1245 (1.99 Å) and Arg1246 (1.84 Å) with van der Waals bonds totaling 5 bonds with amino acid residues Arg306, Asn437,

Met441, Ser 595, and Thr1242. The energy of binding ( $\Delta G$ ) is used to predict the ligand affinity to the receptor, while the estimated inhibition constant (K<sub>i</sub>) is used to predict the in-vitro analysis process in the next process (Natesan *et al.*, 2012). The  $\Delta G$  and K<sub>i</sub> scores determine the ligand affinity to the receptor in the docking method. More negative  $\Delta G$  and lower K<sub>i</sub> indicate higher ligand affinity for the active site of the receptor used (Neshich *et al.*, 2015). Hydrogen bonds are bonds between H atoms and O, N, and F atoms. These bonds can affect the physicochemical properties of compounds, such as boiling point, melting point, solubility in water, chelating ability, and acidity. Van der Waal's bonds are bonds of attraction between molecules or atoms that are not charged and occur because of the nature of polarity (Siswandono, 2016). The amino acid residue of the test ligand on the receptor as compared with the cocrystal ligand to assess the interaction equation, the same amino acid residue shows the higher the probability that the test ligand will have the same activity as the cocrystal ligand (Miller *et al.*, 2015).

Table 1 shows that the value of the energy of binding ( $\Delta G$ ) and the estimated inhibition constant (K<sub>i</sub>) of  $\alpha$ -mangostin is the most negative and low compared to the other test ligands. The energy of binding ( $\Delta G$ )  $\alpha$ -mangostin is -6.31 kcal/mol, and the estimated inhibition constant (K<sub>i</sub>) is 23.65  $\mu M$  with 1 hydrogen bond with the same amino acid residue as the amino acid residue of the cocrystal ligand, namely Arg1246 (2.19 Å), and the van der Waals bonds amount to 1 with the amino acid Asn437 residue. This shows that compared to other test ligands,  $\alpha$ -mangostin has the highest affinity for the active site of the receptor because  $\Delta G$  is the most negative and K<sub>i</sub> is the lowest, so it is predicted that the potential of  $\alpha$ -mangostin as an antidiabetic is higher than the  $\gamma$ -mangostin compound,  $\beta$ -mangostin and sinensetin. The energy of binding ( $\Delta G$ ) value of  $\alpha$ -mangostin -6.31 kcal/mol was not too far from the cocrystal Repaglinide ligand -7.63 kcal/mol, it was predicted that the affinity of the  $\alpha$ -mangostin test ligand as an antidiabetic did not differ significantly too significant with the cocrystal repaglinide ligand.

**Table 1.** Free energy from the energy of binding ( $\Delta G$ ) and the estimated inhibition constant (K<sub>i</sub>)

| Component           | $\Delta G$ (kcal/mol) | K <sub>i</sub> ( $\mu M$ ) |
|---------------------|-----------------------|----------------------------|
| $\alpha$ -mangostin | -6,31                 | 23,65                      |
| $\beta$ -mangostin  | -5,78                 | 58,44                      |
| $\gamma$ -mangostin | -6,17                 | 30,13                      |
| Sinensetin          | -4,75                 | 331,18                     |
| Repaglinide         | -7,63                 | 2,54                       |

In Table 2 shows the equation of the amino acid residues of the hydrogen bonds and the van der Waals bonds that have between the test ligand and the cocrystal ligand. There are 1 hydrogen bond Asn1245 (2.16 Å) and 3 van der Waals bonds (Thr1242, Arg306, and Asn437) in β-mangostin, 1 hydrogen bond with the amino acid residue Arg1246 (3.08 Å) and van der Waals

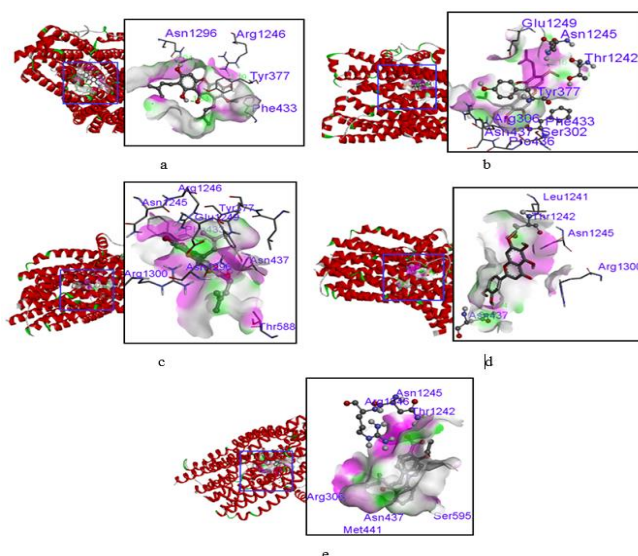
bonds amounting to 2 (Asn1245 and Asn437) on γ-mangostin, 1 hydrogen bond Asn437 (2.84 Å) and 2 van der Waals bonds (Thr1242 and Asn 1245) on sinensetin. The amino acid equation formed between the test ligand and the cocrystal ligand shows that the test ligand has a high probability of having the same activity as the cocrystal ligand (Miller *et al.*, 2015).

**Table 2.** Comparison of the interaction between the amino acid residues of the test ligand and the cocrystal ligand.

| Component   | Hydrogen bonds are spaced (Å), van der Waals bonds are marked √ |         |        |        |        |        |         |
|-------------|---|---------|--------|--------|--------|--------|---------|
|             | Asn1245   | Arg1246 | Arg306 | Asn437 | Met441 | Ser595 | Thr1242 |
| α-mangostin | -   | 2,19    | -      | √      | -      | -      | -       |
| β-mangostin | 2,16  | -       | √      | √      | -      | -      | √       |
| γ-mangostin | √   | 3,08    | -      | √      | -      | -      | -       |
| Sinensetin  | √   | -       | -      | 2,84   | -      | -      | √       |
| Repaglinide | 1,99  | 1,84    | √      | √      | √      | √      | √       |

Figure 4 and Table 3 show the predicted amino acid residues of hydrogen bonds and van der Waals bonds formed due to ligand and receptor interactions. These results indicate that the interaction formed between the

test ligand and the receptor has a stable bond in the active site area of the SUR1-Pancreatic K<sub>ATP</sub> Channel macromolecular pocket (Norel *et al.*, 2001).



**Figure 4.** Bonding of (a) α-mangostin, (b) β-mangostin, (c) γ-mangostin, (d) sinensetin, and (e) repaglinide with SUR1-pancreatic K<sub>ATP</sub> channel macromolecules

**Table 3.** Total interactions of amino acid residues resulting from molecular docking between the test ligand and the receptor

| Component   | Number of interactions | Amino acid residues  |
|-------------|------------------------|--|
| α-mangostin | 4                      | Arg 1246, Asn1296, Tyr377, Phe433  |
| β-mangostin | 9                      | Glu1249, Asn1245, Thr1242, Tyr377, Phe433, Arg306, Asn437, Ser302, Pro436    |
| γ-mangostin | 9                      | Arg 1246, Asn1245, Tyr377, Glu1249, Phe433, Arg1300, Asn1296, Asn437, Thr588 |
| sinensetin  | 5                      | Arg1300, Asn1245, Leu1241, Thr1242, Asn437                                   |

**CONCLUSION**

Mangostin (α, β, γ-mangostin) and sinensetin derivatives are predicted to have potential antidiabetic

activity because there are similarities in the amino acid residues formed between the test ligand and cocrystal ligand against the SUR1 K<sub>ATP</sub> channel receptor through



the in-silico test. The affinity sequence in the docking process for the SUR1 K<sub>ATP</sub> channel macromolecules is  $\alpha$ -mangostin >  $\gamma$ -mangostin >  $\beta$ -mangostin > sinensetin. The highest affinity for the docking process on the macromolecule SUR1 K<sub>ATP</sub> channel was  $\alpha$ -mangostin with a value of  $\Delta G$  -6.31 kcal/mol Ki 23.65  $\mu$ M.

#### ACKNOWLEDGMENT

This research was funded by the Research Grants of the Higher Education Excellence Research Consortium (KRUP), RistekDikti, TA. 2020. Thanks to Prof. Sukardiman and Prof. Suharjono for their manpower, time, and support so that this research can be carried out.

#### REFERENCES

- Ding, D., Wang, M., Wu, J. X., Kang, Y. & Chen, L. (2019). The Structural Basis for the Binding of Repaglinide to the Pancreatic K<sub>ATP</sub> Channel. *Cell Reports*; 27; 1848-1857.
- Geldenhuis, W. J., Gaasch, K. E., Watson, M., Allen, D. D. & Schyf, C. J. V. (2006). Optimizing the Use of Open-source Software Applications in Drug Discovery. *Drug Discovery Today*; 11; 127-132.
- Husen, S. A., Winarni, D., Salamun., Ansori, A. N. M., Susilo, R. J. K. & Hayaza, S. (2019). Hepatoprotective Effect of Gamma-mangostin for Amelioration of Impaired Liver Structure and Function in Streptozotocin-induced Diabetic Mice. *IOP Conference Series Earth and Environmental Science*; 217; 012031.
- Ibrahim, S. R. M., Mohamed, G. A., Khayat, M. T., Ahmed, S., Haded, H. A. & Alshali, K. Z. (2019). Mangostanaxanthone VIII, A New Xanthone from *Garcinia mangostana* pericarps,  $\alpha$ -amylase Inhibitory Activity, and Molecular Docking Studies. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*; 29; 206-212.
- Lee, D., Kim, Y. M., Jung, K., Chin, Y. W. & Kang, K. S. (2018). Alpha-mangostin Improves Insulin Secretion and Protects INS-1 Cells from Streptozotocin-Induced Damage. *International Journal of Molecular Sciences*; 19; 1484.
- Martin, G. M., Sung, M. W., Yang, Z., Innes, L.M., Kandasamy, B., David L. L., Yoshika, C. & Shyng, S. L. (2017). Mechanism of Pharmacochaperoning in a Mammalian K<sub>ATP</sub> Channel Revealed by Cryo-EM. *eLife Sciences Publications*; 8; 1-26.
- Miller, R. L., Thompson, A. A., Trapella, C., Guerrini, R., Malfacini, D., Patel, N. & Stevens, R. C. (2015). The Importance of Ligand-Receptor Conformational Pairs in Stabilization: Spotlight on the N/OFQ G Protein-Coupled Receptor. *Structure*; 23; 2291-2299.
- Mohamed, E. A. H., Siddiqui, M. J. A., Ang, L. F., Sadikun, A., Chan, S. H., Tan, S. C., Asmawi, M. Z. & Yam, M. F. (2012). Potent  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -Amylase Inhibitory Activities of Standardized 60% Ethanolic Extracts and Sinensetin from *Orthosiphon stamineus* Benth as Anti-diabetic Mechanism. *BMC Complementary and Alternative Medicine*; 12; 1-7.
- Muchtaridi, M., Dermawan, D. & Yusuf, M. (2018). Molecular Docking, 3D Structure-Based Pharmacophore Modeling, and ADME Prediction of Alpha Mangostin and its Derivatives Against Estrogen Receptor Alpha. *Journal of Young Pharmacist*; 10; 252-259.
- Natesan, S., Subramaniam, R., Bergeron, C. & Balaz, S. (2012). Binding Affinity Prediction for Ligands and Receptors Forming Tautomers and Ionization Species: Inhibition of Mitogen-activated Protein Kinase-activated Protein Kinase 2 (MK2). *Journal of Medicinal Chemistry*; 55; 2035-2047.
- Neshich, I., Nishimura, L., Rogerio de Moraes, F., Augusto Salim, J., Villalta-Romero, F., Borro, L. & Neshich, G. (2015). Computational Biology Tools for Identifying Specific Ligand Binding Residues for Novel Agrochemical and Drug Design. *Current Protein and Peptide Science*; 16; 701-717.
- Norel, R., Sheinerman, F., Petrey, D. & Honig, B. (2001). Electrostatic Contributions to Protein-protein Interactions: Fast Energetic Filters for Docking and Their Physical Basis. *Protein Science*; 10; 2147-2161.
- Siswando. (2016). Kimia Medisinal 1 (Edisi 2). Surabaya: Airlangga University Press.
- Zubair, M. S., Anam, S., Khumaidi, A., Susanto, Y., Hidayat, M. & Ridhay, A. (2016). Molecular Docking Approach to Identify Potential Anticancer Compounds from *Begonia* (*Begonia* sp). *AIP Conference Proceedings*; 1755; 080005-1-080005-7.

## Perbandingan Metode Sintesis Senyawa 1-benzil-3-(4-etil-benzoil)urea dan 1-benzil-3-(4-klorometil-benzoil)urea sebagai Calon Obat Antikanker

### *Comparative Synthesis Methods of 1-benzyl-3-(4-ethyl-benzoyl)urea and 1-benzyl-3-(4-chloromethyl-benzoyl)urea compounds as an anticancer drug candidate*

Farida Suhud<sup>1\*</sup>, Daryono Hadi Tjahjono<sup>2</sup>, Tegar Achsendo Yuniarta<sup>1</sup>, Galih Satrio Putra<sup>3</sup>, Melanny Ika Sulistyowaty<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Pharmaceutical Chemistry Department, Faculty of Pharmacy, University of Surabaya, Surabaya, Indonesia

<sup>2</sup>School of Pharmacy, Institute Teknologi Bandung, Bandung, Indonesia

<sup>3</sup>Pharmaceutical Chemistry Department, University of Anwar Medika, Sidoarjo, Indonesia

<sup>4</sup>Pharmaceutical Sciences Department, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya Indonesia

\*Corresponding author: faridasuhud@staff.ubaya.ac.id

Submitted: 4 July 2021

Accepted: 26 September 2021

Published: 30 November 2021

#### **Abstract**

**Background:** The research of anticancer drugs is still being developed, especially on the hydroxyurea group.

**Objective:** This study aimed to compare the synthesis methods of 1-benzyl-3-benzoylurea derivatives, namely 1-benzyl-3-(4-ethyl-benzoyl)urea and 1-benzyl-3-(4-chloromethyl-benzoyl)urea. **Methods:** Optimization of the synthesis method was carried out by comparing the synthesized products with and without reflux heating. The products obtained were subjected to structure elucidation analysis by using FTIR, <sup>1</sup>H-NMR, and <sup>13</sup>C-NMR.

**Results:** The reflux synthesis method produced by-product compounds, which needed to be separated by column chromatography. The method without heating is preferred because it did not produce by-product compounds.

**Conclusion:** The method of synthesizing 1-benzyl-3-benzoylurea derivatives was recommended without using reflux heating, and in the future, researchers must find a better approach to get a better yield.

**Keywords:** 1-benzyl-3-benzoylurea derivatives, synthesis, method comparison, reflux

#### **Abstrak**

**Pendahuluan:** Pengembangan obat antikanker yang selektif dari turunan hidroksiurea masih diteliti sampai saat ini. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan metode sintesis senyawa turunan hidroksiurea yaitu 1-benzil-3-(4-etil-benzoil)urea dan 1-benzil-3-(4-klorometil-benzoil)urea. **Metode:** Optimasi metode sintesis yang dilakukan dengan membandingkan produk hasil sintesis dengan pemanasan refluks dan tanpa pemanasan refluks. Produk yang didapat dilakukan analisis elusidatif meliputi FTIR, <sup>1</sup>H-NMR dan <sup>13</sup>C-NMR. **Hasil:** berdasarkan hasil perbandingan metode sintesis menggunakan refluks menyebabkan terbentuknya dua produk samping sehingga perlu dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom antara produk utama dengan dua produk sampingnya. Metode tanpa pemanasan lebih dipilih karena tidak menghasilkan dua produk hasil samping walaupun rendemen masih dalam rentang 20-30%. **Kesimpulan:** Metode sintesis senyawa turunan 1-benzil-3-benzoilurea lebih direkomendasikan tanpa pemanasan daripada menggunakan pemanasan refluks, tetapi penelitian kedepannya harus didapatkan metode yang lebih baik untuk mendapatkan rendemen yang lebih besar.

**Kata kunci:** turunan benzilbenzoil urea, sintesis, perbandingan metode, refluks

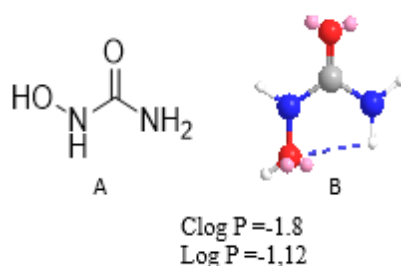
#### **PENDAHULUAN**

Kanker adalah ancaman terbesar bagi kesehatan manusia, baik di negara maju dan negara berkembang.

Berdasarkan data WHO tahun 2015, penyakit kanker, sebagai contoh kanker paru masih menempati urutan ke 5 dari daftar sepuluh penyakit paling mematikan,

dimana sekitar 4 juta orang meninggal pada tiap tahunnya (Pietrangelo dan Holland, 2017) Fakta ini membuat banyak peneliti di dunia mencoba untuk mengembangkan obat antikanker yang selektif dengan efek samping minimal.

Hidroksiurea (cytodrox atau hydrea) adalah salah satu obat yang masih yang masih digunakan oleh medis secara luas untuk menangani kasus kanker leukimia dan massa tumor (Sweetman, 2009; Segal dkk., 2008). Hidroksiurea memiliki struktur kimia yang sangat sederhana (Gambar 1), bersifat hidrofilik, dengan nilai  $ClogP = -1,8$  dan  $\log P = -1,12$  larut dalam air dan tersebar merata melalui cairan tubuh (Saban & Bujak, 2009). Sifat kepolaran hidroksiurea menyebabkan kemampuan hidroksi urea menembus membran biologis semakin menurun. Beberapa penelitian sebelumnya mengungkap bahwa gugus urea atau benzilurea adalah gugus farmakofor yang memiliki aktifitas antikanker yang terdapat pada senyawa hidroksiurea (Lokwani dkk., 2011; Lu dkk., 2013).



**Gambar 1.** A) struktur 2 dimensi hidroksiurea; B) struktur 3 dimensi hidroksiurea

Penambahan gugus benzil dan benzoil pada senyawa hidroksiurea bertujuan untuk mengurangi kepolaran dari hidroksi urea agar lebih mudah menembus membran biologis (El-Sawy dkk., 2012). Penelitian sebelumnya telah berhasil membuktikan penambahan gugus benzil dan benzoil pada hidroksiurea meningkatnya aktivitas antiproliferatif terhadap kultur sel kanker MCF-7 dengan nilai  $IC_{50}$  (Inhibitory Concentration 50%)  $384,57 \mu M$  sedangkan hidroksiurea  $1228,96 \mu M$  (Suhud dkk., 2015).

Metode Schotten-Baumann telah banyak digunakan untuk mensintesis senyawa turunan hidorksiurea ataupun senyawa amida lainnya (Kesuma dkk., 2017; Shalas dkk., 2016; Shalas dkk., 2018; White dkk., 2012; Suhud, 2018). Penelitian sebelumnya telah berhasil mensintesis 12 senyawa turunan dari 1-benzil-3-benzoilurea dengan metode Schotten Baumann (Suhud, 2018). Hasil sintesis dari 12 senyawa turunan 1-benzil-3-benzoilurea memiliki berbagai variasi sifat lipofilik

dan elektronik yang berpengaruh pada hubungan kuantitatif struktur aktivitas. Hasil dari 12 senyawa turunan dari 1-benzil-3-benzoilurea didapatkan persamaan hubungan kuantitatif struktur-aktivitas (HKSA) terbaik yaitu  $Log 1/IC_{50} = 0,236 ClogP + 0,013 RS + 2,482$  (Suhud, 2018).

Berdasarkan persamaan HKSA yang telah diperoleh, terdapat 2 parameter yang paling menentukan meningkatnya aktivitas antikanker dari senyawa 1-benzil-3-benzoilurea yaitu sifat fisikokimia  $ClogP$  (lipofilik) dan  $RS$  (elektronik). Senyawa 1-benzil-3-(4-etil-benzoil)urea dan 1-benzil-3-(4-klorometil-benzoil)urea bersifat lebih lipofilik dan elektronik dari senyawa induknya, sehingga penelitian ini melanjutkan untuk mensintesis kedua senyawa tersebut dengan membandingkan antara metode pemanasan refluks dan metode tanpa pemanasan yang dilakukan pada suhu  $0^{\circ}C$  di dalam penangas es.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Semua reagen seperti benzilurea, 4-klorometilbenzoil klorida, 4-etilbenzoil klorida, tetrahidrofur (THF), Trietilamina (TEA) dibeli dari supplier yang terstandar. Proses kesempurnaan reaksi diamati menggunakan KLT, plat *silica gel* GF254 ketebalan 0,2 mm. Fase gerak menggunakan n-heksana; etil asetat (2 : 1) yang diamati di bawah sinar lampu UV 254 nm. Proses pemisahan senyawa dilakukan dengan kromatografi kolom menggunakan serbuk *silica gel* 60 sebagai fase diam dan n-heksana : etil asetat (2 : 1) sebagai fase gerak

### Alat

Uji jarak lebur dari senyawa yang telah disintesis menggunakan alat Sybron Thermolyne MP 12615 *melting point apparatus*. Spektra IR kedua senyawa diperoleh menggunakan alat Perkin Elmer Spectrum spektrofotometer pada media pellet KBr. Spektra  $^1H$ -NMR and  $^{13}C$ -NMR kedua senyawa diperoleh menggunakan alat JEOL JNM-ECS400 ( $^1H$ -NMR: 400 MHz,  $^{13}C$ -NMR: 100 MHz) dengan media DMSO terdeuterasi dan TMS sebagai internal standar.

### Metode

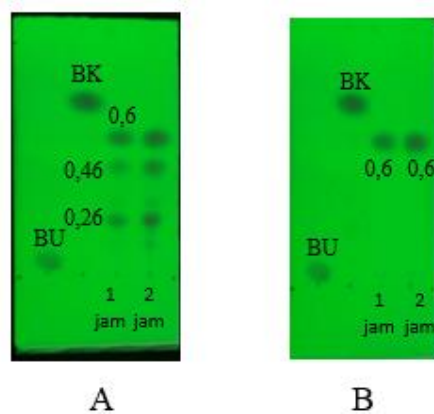
#### Metode sintesis

Benzilurea (5 mmol) dilarutkan pada 8 mL THF pada labu alat bulat. Larutan ditambahkan 1 mL TEA sebagai katalis yang menjadikan suasana reaksi menjadi basa. Larutan direaksikan dengan 4-etilbenzoil klorida (6 mmol) yang diberikan tetes demi tetes pada suhu  $0^{\circ}C$  pada penangas es dan dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic bar* selama 30 menit. Campuran

diberikan pemanasan dengan metode konvensional dengan menggunakan refluks pada suhu 60°C selama 2 jam. Proses kesempurnaan reaksi diamati dengan proses pengambilan sampel yang kemudian ditotolkan pada plat KLT dan dimasukkan pada bejana yang berisikan larutan pengembang n-heksana : etil asetat (2 : 1). Apabila reaksi telah berjalan sempurna ditandai dengan hilangnya noda benzilurea. Setelah reaksi berjalan sempurna, proses refluks dihentikan, campuran diuapkan untuk menghilangkan THF. Padatan yang terbentuk ditambahkan larutan jenuh 10% NaHCO<sub>3</sub> kemudian disaring. Padatan yang diperoleh dilakukan proses rekristalisasi menggunakan etanol 96%. Kristal yang diperoleh dilakukan uji elusidasi. Pada proses tanpa pemanasan refluks, hanya dihomogenkan dengan menggunakan magnetic bar pada suhu 0°C di dalam penangas es (Suhud dkk., 2015).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Reaksi antara benzilurea dengan 4-etilbenzoil klorida yang dilakukan dengan pemanasan refluks selama 2 jam, diperoleh tiga noda baru saat diekspansi dengan fase gerak n-heksana : etil asetat (2 : 1). Proses refluks pada suhu 60°C selama 1 jam, benzilurea dan 4-etilbenzoil klorida telah bereaksi sempurna ditandai tidak adanya noda kedua senyawa tersebut saat diamati dibawah sinar UV 254 nm yang ditunjukkan pada Gambar 2. Senyawa 4-etilbenzoil klorida pada penelitian ini adalah reagen yang berlebihan karena proses pemanasan refluks menjadikan 4-etilbenzoil klorida lebih reaktif sehingga tidak hanya dihasilkan produk utama yang diharapkan yaitu 1-benzil-3-(4-etilbenzoil)urea namun dihasilkan dua macam produk samping lainnya.

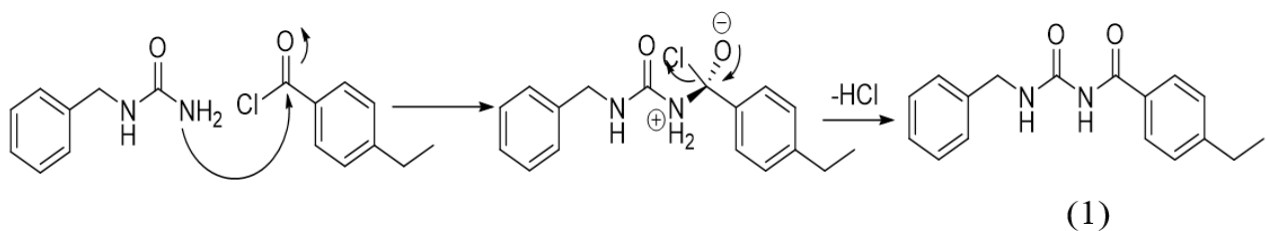


**Gambar 2.** A) Proses refluks; B) Proses tanpa refluks. Reagen (BU = benzilurea; BK = 4-etilbenzoil klorida) dan produk hasil refluks selama 2 jam yang diekspansi dengan n-heksana : etil asetat (2 : 1) yang diamati pada dibawah sinar UV 254 nm

Untuk melakukan uji elusidatif dari 3 produk yang terbentuk, maka dilakukan kromatografi kolom dengan fase gerak n-heksana : etil asetat (20:1). Pada metode pemisahan ini, berhasil diisolasi dua noda pada R<sub>f</sub> = 0,60 dan R<sub>f</sub> = 0,46. Hasil elusidasi berdasarkan <sup>1</sup>H-NMR dan <sup>13</sup>CNMR pada noda R<sub>f</sub> = 0,60 adalah senyawa (1) : 1-benzil-3-(4-etilbenzoil)urea yang merupakan produk utama yang diharapkan. Noda pada R<sub>f</sub> = 0,46 adalah senyawa yang merupakan produk samping (2)

yaitu N-benzil-4-etilbenzamide. Data spektra senyawa dapat dilihat pada Gambar 5 dan 6.

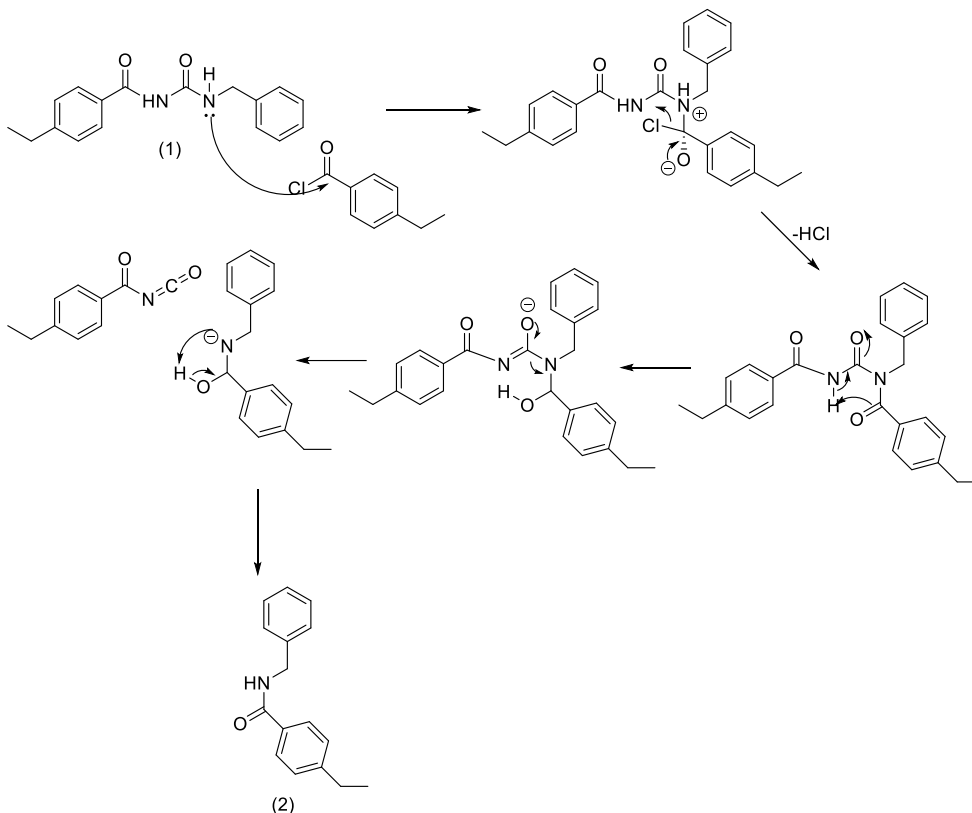
Mekanisme terbentuknya senyawa 1-benzil-3-(4-etilbenzoil)urea melalui SN-asil (Suhud dkk., 2015). Serangan nukleofilik (Nu-) -NH<sub>2</sub> senyawa benzilurea pada C=O (karbonil) senyawa 4-etilbenzoil klorida menyebabkan proses substitusi yang diikuti dengan eliminasi yaitu terlepasnya Cl<sup>-</sup> karena gugus Cl adalah gugus pergi yang baik dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Mekanisme reaksi terbentuknya senyawa 1-benzil-3-(4-etilbenzoil)urea

Mekanisme reaksi terbentuknya produk samping N-benzil-4-etilbenzamida juga melalui mekanisme SN-asil (Clayden dkk., 2001). Serangan nukleofilik (Nu-) bukan berasal dari senyawa benzilurea tetapi berasal dari produk utama yang terbentuk yaitu 1-benzil-3-(4-etilbenzoil)urea karena senyawa benzilurea telah habis bereaksi. Serangan nukleofilik (Nu-) -NH senyawa 1-

benzil-3-(4-etilbenzoil)urea pada C=O (karbonil) senyawa 4-etilbenzoil klorida yang berlebih menyebabkan proses substitusi yang diikuti dengan eliminasi yaitu terlepasnya Cl<sup>-</sup> karena gugus Cl adalah gugus pergi yang baik yang dilanjutkan dengan proses penataulangan yang dapat dilihat pada Gambar 4 (Sary dkk., 2015).

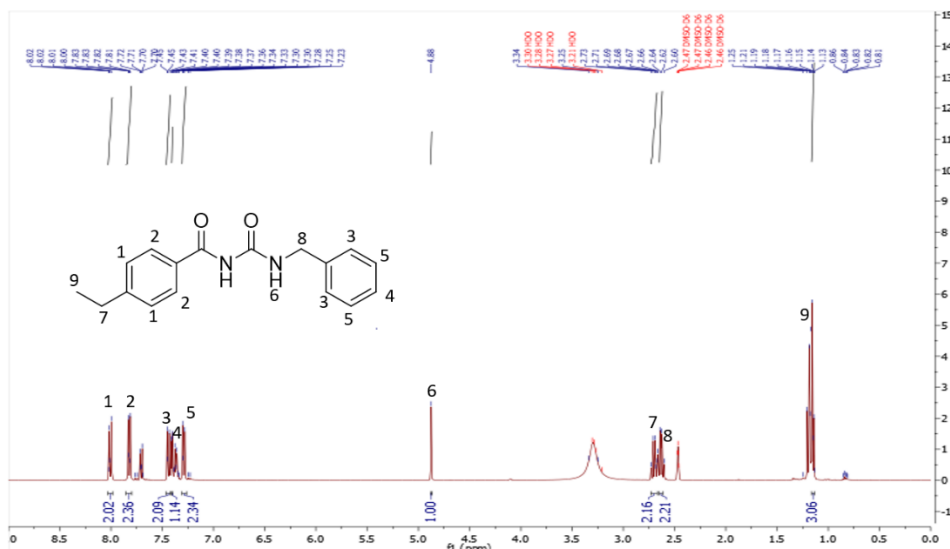


**Gambar 4.** Mekanisme reaksi terbentuknya N-benzil-4-etilbenzamida melalui SN-asil, yang diikuti dengan proses penataulangan

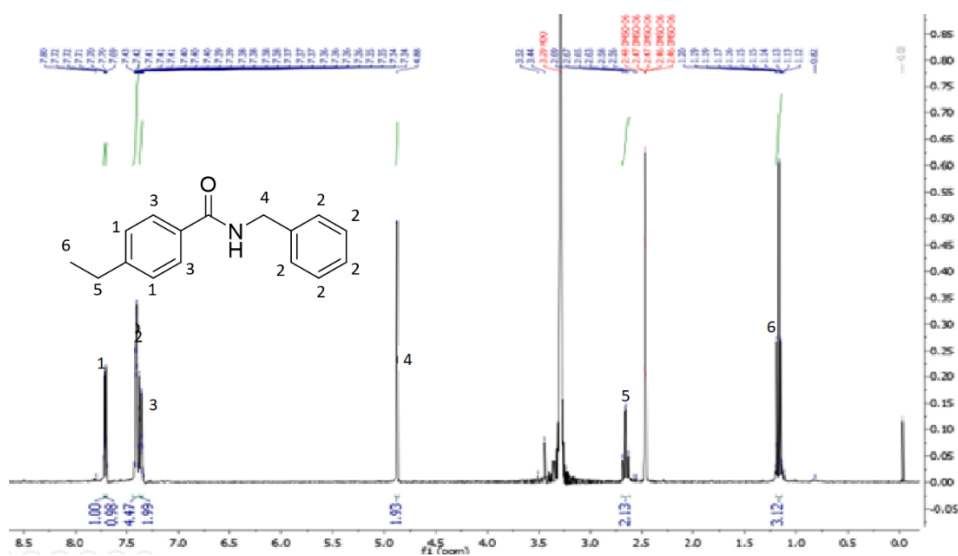
Proses pemanasan menggunakan refluks pada suhu 60°C selama 1 jam didapatkan produk utama yang diharapkan beserta 2 produk samping sehingga metode pemanasan refluks kurang efektif karena perlu memisahkan produk menggunakan kromatografi kolom yang berdampak pada rendemen yang kecil dan waktu sintesis semakin lama. Beberapa penelitian menjelaskan metode Schotten Baumann bereaksi dengan baik pada suhu -10°C sampai 30°C dibandingkan dengan adanya pemanasan secara refluks (Dean dkk., 1989; Aliyu & Abubakar, 2011; Kesuma dkk., 2019).

Metode sintesis senyawa 1-benzil-3-(4-etilbenzoil)urea tanpa pemanasan yang dilakukan pada suhu 0°C di dalam penangas es yang dihomogenkan

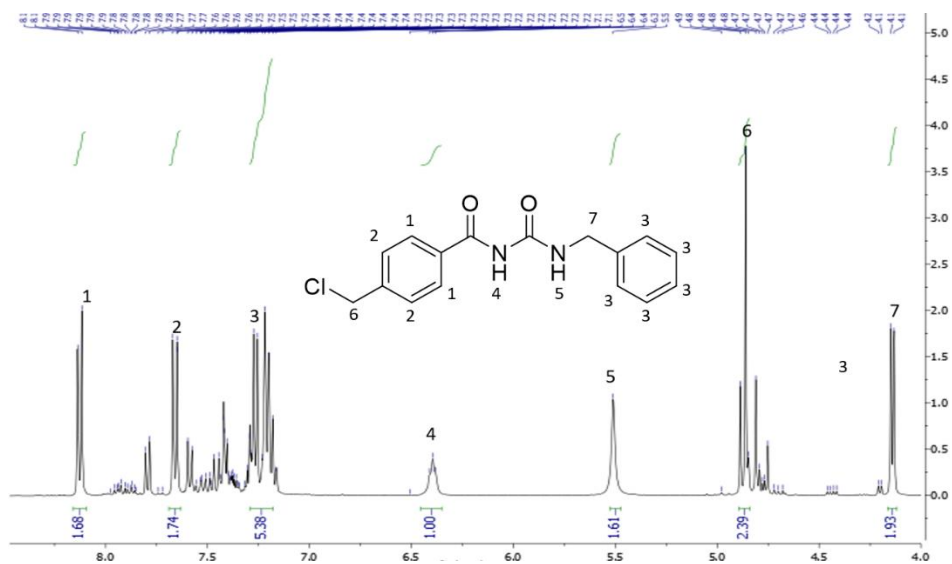
dengan *magnetic stirrer* selama 30 menit didapatkan satu noda tunggal yaitu senyawa 1-benzil-3-(4-etilbenzoil)urea namun juga ada sedikit kontaminasi produk samping sehingga hasil <sup>1</sup>H-NMR terdapat puncak pada daerah aromatis yang ditunjukkan pada Gambar 7. Kereaktifan dari 4-etilbenzoilklorida akan berkurang karena tidak adanya energi panas yang diperlukan pada proses tumbukan. Metode sintesis tanpa pemanasan juga dilakukan pada sintesis senyawa 1-benzil-3-(4-klorometilbenzoil)urea juga hanya didapatkan satu produk tunggal yaitu 1-benzil-3-(4-klorometilbenzoil)urea dengan menghasilkan sedikit produk samping reaksi. Data fisikokimia dan spektra senyawa hasil sintesis dapat dilihat pada Gambar 5, 6, 7.



Gambar 5. Spektrum <sup>1</sup>H-NMR senyawa 4-etil-1-benzil-3-benzoilurea pada DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz



Gambar 6. Spektrum <sup>1</sup>H-NMR senyawa N-benzil-4-etilbenzamida pada DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz



Gambar 7. Spektrum <sup>1</sup>H-NMR senyawa N-benzil-4-etilbenzamida pada DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz

### 1-benzil-3-(4-etil-benzoil)urea (1)

Kristal putih (21%), *m.p.* :85-86 °C, FTIR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  :3332 (NH); 1697 dan 1654 (C=O); 1616 dan 1457 (C=C aromatis); 2966 (C-H  $\text{sp}^2$ ); 1307 (C-N); 1455 (-CH<sub>2</sub>- bend); 2966 (-CH<sub>3</sub> stretch); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$ , ppm) :  $\delta$  8,01 (2H, dd, *J* = 8,0; 1,8 Hz, atom H dari C-H aromatis, H-1);  $\delta$  7,82 (2H, dd, *J* = 8,0; 1,8 Hz, atom H dari C-H aromatis, H-2);  $\delta$  7,44 (2H, d, *J* = 8,2 Hz atom H dari C-H aromatis, H-3);  $\delta$  7,41-7,39 (1 H, m, atom H dari C-H aromatis, H-4);  $\delta$  7,29 (2H, d, *J* = 8,2 Hz, atom H dari C-H aromatis, H-5);  $\delta$  4,88 (1H, s, atom H dari -CONHC-);  $\delta$  2,70 (2 H, q, *J* = 7,5 Hz, atom H pada C-CH<sub>2</sub>-);  $\delta$  2,56 (2H, d, *J* = 7,8 Hz, atom H dari N-CH<sub>2</sub>-);  $\delta$  1,15 (3H, t, 7,5 Hz, atom H dari -CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$ , ppm) :  $\delta$  160,0 (1C, atom C dari C=O);  $\delta$  152,4 (1C, atom C dari C=O);  $\delta$  131,1 (2 C, atom C dari C aromatis);  $\delta$  130,0 (2C, atom C dari C aromatis);  $\delta$  129,4 (1C);  $\delta$  129,3 (2C);  $\delta$  129,1(1C);  $\delta$  128,5 (2C);  $\delta$  128,4 ppm, (2C);  $\delta$  50,9 (1C, atom C dari NH-C);  $\delta$  28,7 (1C, atom C dari CH<sub>2</sub> gugus etil);  $\delta$  15,6 (1C, atom C dari CH<sub>3</sub> gugus etil).

### N-benzil-4-etilbenzamida (2)

Serbuk putih, FTIR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  :3332 (NH); 1697 (C=O); 1620 dan 1475 (C=C aromatis); 2965 (C-H  $\text{sp}^2$ ); 1302 (C-N); 1455 (-CH<sub>2</sub>- bend); 3005 (-CH<sub>3</sub> stretch); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$ , ppm) :  $\delta$  7,72-7,69 (2H, m, atom H dari C-H aromatis, H-1);  $\delta$  7,42-7,39 (5H, m, atom H dari C-H aromatis, H-2);  $\delta$  7,38-7,35 (2H, m, atom H dari C-H aromatis, H-3);  $\delta$  4,88 (2H, s, atom H dari -CH<sub>2</sub>-, H-4);  $\delta$  2,66 (2H, q, *J* = 7,6; 7,6 Hz, atom H dari -CH<sub>2</sub>-, H-5);  $\delta$  1,17 (3 H, t, *J* = 7,6 Hz, atom H dari -CH<sub>3</sub>).

### 1-benzil-3-(4-klorometil-benzoil)urea (3)

Serbuk putih (32%), *m.p.*: 88-91°C FTIR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  : 3332 (NH); 1659 dan 1651 (C=O); 1601 dan 1454 (C=C aromatis); 2949 (C-H  $\text{sp}^2$ ); 1268 (C-N); 1467 (-CH<sub>2</sub>- bend). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$ , ppm) :  $\delta$  8,13 (2H, d, *J* = 8,0 Hz, atom H dari C-H aromatis, H-1);  $\delta$  7,66 (2H,d, *J* = 8,0 Hz, atom H dari C-H aromatis, H-2);  $\delta$  7,29-7,19 (5H, m, atom H dari C-H aromatis, H-3);  $\delta$  6,40 (1 H, s, atom H dari N, H-6);  $\delta$  5,51(1H, s, atom H dari N, H-4);  $\delta$  4,86 (2H, s, atom H dari CH<sub>2</sub>-Cl);  $\delta$  4,14 (2H, d, *J* = 6 Hz, atom H dari N-CH<sub>2</sub>-); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$ , ppm):  $\delta$  167,5 (1 C, atom C dari C=O);  $\delta$  142,9 (1C, atom C dari C=O);  $\delta$  131,4 (1C); 131,1 (1C);  $\delta$  130,2 (2C);  $\delta$  130,1 (2C);  $\delta$  129,4 (2C);  $\delta$  128,7 (2C);  $\delta$  127,5 (2C);  $\delta$  127,0 (1C);  $\delta$  45,8 (1C);  $\delta$  45,5 (1C).

### KESIMPULAN

Metode tanpa pemasanan lebih dipilih karena tidak menghasilkan dua produk samping walaupun rendemen masih dalam rentang 20 - 30% sehingga penelitian selanjutnya harus didapatkan metode yang lebih baik untuk mendapatkan rendemen yang lebih besar.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada DIKTI dan LPPM Universitas Surabaya yang telah membiayai penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Aliyu, A. O. C. & Abubakar, I. (2011). Synthesis of Some Capsaicin Analogues Using Fatty and Benzoic Acid- Chlorides. *International Journal of Advanced Research in Chemical Science*; 5; 1-3.
- Clayden, J., Greeves, N. & Warren, S. (2001). Organic Chemistry 1st edition. New York: Oxford University Press Inc.
- Dean, B. D., Matzner, M. & Tibbitt, J. M. (1989). 18 – Polyarylates. *Comprehensive Polymer Science and Supplements*; 5; 317-329.
- El-Sawy, E. R., Mandour, A. H., Mahmoud, K., Islam, I. E. & Abo-Salem, H. M. (2012). Synthesis Antimicrobial and Anticancer Activities of Some New N-Ethyl, N-Benzyl and N-Benzoyl-3-Indolyl Heterocycles. *Acta Pharmaceutica*; 62; 157–179.
- Kesuma, D., Purwanto, B. T. & Rudyanto, M. (2019). Synthesis and Anticancer Evaluation of N-benzoyl-N' Phenyltiourea Derivatives Against Human Breast Cancer Cells (T47D). *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*; 29; 123-129
- Kesuma, D., Purwanto, B. T. & Rudyanto, M. (2017). Synthesis of N-(phenylcarbamothioyl)-benzamide Derivatives and Their Cytotoxic Activity Against MCF-7 Cells. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*; 27; 696-702.
- Lokwani, D., Bhandari, S., Pujari, R., Shastri, P., Shelke, G. & Pawar, V. (2011). Use of Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) and ADMET Prediction Studies as Screening Methods for Design of Benzyl Urea Derivates for Anti-Cancer Activity. *Journal of Enzyme Inhibiton and Medicinal Chemistry*; 26; 319-331.
- Lu, C. S., Tang, K., Li, Y., Jin, B., Yin, D. L., Ma, C., Chen, X. G., Huang, H. H. (2013). Synthesis and *In Vitro* Antitumor Activities of Novel Benzyl Urea Analogues of Sorafenib. *Yao Xue Xue Bao*; 48; 709-717.

- Pietrangelo, A. & Holland, K. (2018). The Top 10 Deadliest Diseases. <https://www.healthline.com/health/top-10-deadliest-diseases#cad>. Accessed: 1 October 2018.
- Saban, N. & Bujak, M. (2009). Hydroxyurea and Hydroxamic Acid Derivatives as Antitumor Drugs. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*; 64; 213–221
- Sary, I. P., Siswandono, Budiati, T. (2015). N-Phenylbenzamide Synthesis by Nucleophilic Substitution With 1,3-Diphenylthiourea. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*; 7; 481-482
- Segal, J. B., Strouse, J. J., Beach, M. C., Haywood, C., Witkop, C., Park H. S., Wilson R. F., Bass E. B. & Lanzkron S. (2008). Hydroxyurea for the Treatment of Sickle Cell Disease. *Evidence Report/Technology Assessment*; 165; 1-95.
- Shalas, A. S., Siswandono & Rudyanto, M. (2016). Synthesis and Structure-Activity Relationship of 1-Allyl-3-(2-Chlorobenzoyl) Thiourea as Analgesic. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*; 8; 97-298.
- Shalas, A. S., Siswandono & Rudyanto, M. (2018). Synthesis and Pain Inhibition Activity of the Analogs of 1-Allyl-3-Benzoylthiourea for New Analgesic Lead Compound Discovery. *Journal of Young Pharmacists*; 10; 12-15
- Suhud, F., Siswandono & Budiati T. (2015). Synthesis and Activity Evaluation of a Novel Lead Compound 1-Benzyl-3-Benzoylurea as Antiproliferative Agent. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*; 3; 192-195.
- Suhud, F. (2018). Penemuan Obat Baru Turunan Urea Sebagai Antikanker: Langkah-langkah dan Aplikasi di Bidang Penelitian. Graha Ilmu: Yogyakarta.
- Sweetman, S. (2009). Martindale the Complete Drug Reference (36th ed.). London: Phamaceutical Press.
- White, T. D., Berglund, K. D., Groh, J. M., Johnson, M. D., Miller, R. D. & Yates, M. H. (2012). Development of a Continuous Schotten–Baumann Route to an Acyl Sulfonamide. *Organic Process Research & Development*; 16; 939–957.



## Comparative Analysis of Actual Cost and INA CBG Rate in Diabetic Gangrene Inpatients

Diajeng Putri Kinanti<sup>1</sup>, Umi Athiyah<sup>2</sup>, Yunita Nita<sup>2\*</sup>, Muhammad Noor Diansyah<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Master of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

<sup>2</sup>Department of Pharmacy Practice, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

<sup>3</sup>Faculty of Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

<sup>4</sup>Universitas Airlangga Hospital, Surabaya, Indonesia

\*Corresponding author: yunita-n@ff.unair.ac.id

Submitted: 6 May 2021

Accepted: 3 August 2021

Published: 30 November 2021

### Abstract

**Background:** Diabetic gangrene is a complication of diabetes mellitus that imposes a substantial financial burden on patients and their families as well as the health care system. **Objective:** To determine the total cost of disease, and the difference between real cost and INA CBG rate for diabetic gangrene inpatients from January - December 2017 at Universitas Airlangga Hospital, Surabaya **Methods:** The study was conducted retrospectively by using a total sampling method. The perspective used was the hospital perspective. This study's direct medical costs were laboratory, drug and consumable medical device costs, medical equipment rental, radiology examination, red cross, oxygen, service, and room costs. Data analysis was performed using an independent samples *t*-test. **Results:** The results showed that 148 patients met the inclusion criteria. The total real cost of diabetic gangrene inpatients at Universitas Airlangga Hospital in 2017 was IDR 1,339,949,381, and the total INA CBG rate for inpatients with diabetic gangrene was IDR 1,365,047,500. The difference was ( $p = 0.000$ ) between real cost and INA CBG rate. **Conclusion:** There is a difference between the actual cost and the INA CBG rate for diabetic gangrene inpatients.

**Keywords:** national health insurance, cost analysis, direct cost, diabetic gangrene, diabetes mellitus

### Abstrak

**Pendahuluan:** Gangren diabetik merupakan salah satu komplikasi diabetes melitus yang memberikan beban finansial yang besar bagi pasien dan keluarga serta sistem pelayanan kesehatan. **Tujuan:** mengetahui total biaya penyakit, dan perbedaan antara biaya riil dengan tarif INA CBG pasien gangren diabetik rawat inap periode bulan Januari-Desember 2017 di Rumah Sakit Universitas Airlangga Surabaya. **Metode:** Penelitian dilakukan secara retrospektif dengan cara pengambilan metode *total sampling*. Perspektif menggunakan perspektif rumah sakit. Biaya medis langsung (*direct medical cost*) pada penelitian ini adalah biaya laboratorium, biaya obat dan alat medis habis pakai, biaya persewaan alat medis, biaya pemeriksaan radiologi, biaya PMI, biaya oksigen, biaya jasa pelayanan, dan biaya sewa kamar. Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji *independent samples t*-test. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan terdapat 148 pasien yang memenuhi kriteria inklusi. Total biaya riil pasien gangren diabetik rawat inap di Rumah Sakit Universitas Airlangga Surabaya tahun 2017 adalah Rp 1,339,949,381 dan total tarif INA CBG pasien gangren diabetik rawat inap adalah Rp 1,365,047,500. Diperoleh perbedaan ( $p = 0,000$ ) antara biaya riil dengan tarif INA CBG. **Kesimpulan:** Terdapat perbedaan antara biaya riil dengan tarif INA CBG pasien gangren diabetik rawat inap.

**Kata kunci:** jaminan kesehatan nasional, analisis biaya, biaya langsung, gangren diabetik, diabetes melitus

## INTRODUCTION

Diabetic gangrene is a complication of diabetes. Diabetic gangrene is tissue death or necrosis of the skin and deeper structures, such as muscle, tendon, bone, and joint. Diabetic gangrene occurs in patients, especially in cases of lower limb infection, ulcer formation, and/or tissue damage caused by neuropathy and vascular disease of varying degrees. Diabetic foot condition occurs mainly in patients with the incidence of diabetic ulcer with a long duration and HbA1c value of >7% (Wang *et al.*, 2020).

The total average cost of diabetic gangrene patients in China has increased yearly, especially from 2017 to 2020. In 2014, the total average cost of inpatient care for diabetic ulcer patients was ¥15,535.58. The average total cost of care has been increasing until 2020 as it is recorded that the average total cost is ¥42,040.60. The total cost of treatment and length of treatment increases in relation to amputation ( $P < 0.05$ ) (Lu *et al.*, 2020). In some cases of diabetic gangrene, amputation is performed. Amputation in diabetic patients is 10 to 20 times more frequent than in non-diabetic patients (WHO, 2016). Chun *et al.* (2019) research data shows that the direct cost of amputation in diabetic ulcer patients in Korea increased from \$17,578,520 in 2011 to \$25,254,676 in 2016. The average cost of amputation per diabetic ulcer patient increased from \$6,055 in 2011 to \$7,329 in 2016.

The high cost of treating diabetic gangrene can be burdensome for the sufferers and their families. Therefore, the Indonesian government is setting up comprehensive health insurance known as the National Health Insurance (JKN), and diabetic gangrene is one of the diseases included in health insurance financing.

In the era of national health insurance, the payment of benefits at advanced level referral health facilities is in *Indonesia Case Base Groups* (INA CBG) package. The INA CBG rate has been determined based on the classification of disease diagnoses and procedures/actions associated with treatment cost. The rate is fixed or constant, regardless of the action taken.

The INA CBG rate payment method is prospective. A prospective payment method is a payment method determined and agreed upon before the service is provided. Meanwhile, hospital rate or what is called actual cost, uses a retrospective method. This method is a payment method for health services provided to patients based on each service activity provided. The more the number of service activities provided, the greater the cost to be paid. Some research data with various cases such as coronary heart disease

(Lilissuriani *et al.*, 2017), hemorrhagic stroke (Hudayani, 2016), neonatal (Mufarrihah, 2016), ischemic stroke (Putri, 2016; Muslimah *et al.*, 2017), and so on indicate that there is a difference between actual cost and INA CBG rate. However, this study is different from previous studies because it examines the actual cost and analyzes the difference between actual cost and diabetic gangrene by involving all cases of diabetic gangrene at Universitas Airlangga Hospital.

This research is conducted at Universitas Airlangga Hospital, Surabaya. Universitas Airlangga Hospital Surabaya is a type B hospital, one of the referral hospitals in Surabaya. This hospital has collaborated with Healthcare and Social Security Agency (BPJS Kesehatan) to treat patients with BPJS Health membership. As an Advanced Level Referral Health Facility (FKRTL), Universitas Airlangga Hospital accepts referral patients from health service providers (PPK) 1 and health service providers (PPK) 2, so this hospital treats patients with diabetic gangrene cases with actions and procedures in which the previous health facilities cannot handle (PPK 1 and PPK 2) at great expense.

Based on the background explained above, thus a study was conducted to analyze the average actual cost of diabetic gangrene cases and the difference between the actual cost and INA CBG rate for diabetic gangrene patients hospitalized at Universitas Airlangga Hospital Surabaya using a hospital perspective.

## MATERIALS AND METHODS

The research data was taken from the period of January - December 2017. The samples of this study were inpatients of diabetic gangrene who were JKN participants at Universitas Airlangga Hospital, Surabaya. The inclusion criteria of this study were 1) patients with a diagnosis of diabetic gangrene based on the INA CBG claim with ICD code of 10 E11.52 with a *Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus with Peripheral Circulatory Complications* diagnosis, 2) patients were BPJS Class 1, 2, and 3 participants, 3) complete patient data listed in medical record data, detailed data on inpatient care cost, and claim data from January to December 2017. On the other hand, the exclusion criteria for this study were 1) the patients died, 2) the patients discharged from the hospital by their request.

The sampling technique was carried out using the total sampling method. Data analysis was performed using the independent samples t-test examination.

**RESULTS AND DISCUSSION**

**Patient characteristics**

Based on the from January to December 2017, there were 148 cases of diabetic gangrene inpatients who were JKN participants at Universitas Airlangga Hospital, Surabaya. Table 1 shows the data on the characteristics of diabetic gangrene inpatients.

Patient characteristics data in Table 1 shows that 84 (56.8%) respondents were women. These results were consistent with Fitria *et al.* (2017), indicating that patients who experienced diabetic foot ulcers at Zainal Abidin Hospital and Meuraxa Hospital in Banda Aceh

were primarily women, as many as 31 patients (54.5%). Hormonal changes in menopausal women can increase the risk of diabetes mellitus. The research by Li *et al.* (2019) showed that the incidence of type 2 diabetes mellitus was mostly found in postmenopausal women than in premenopausal women ( $p < 0.01$ ). Research shows that menopause increases the risk of metabolic disease and system function decreases with decreasing levels of estrogen and progesterone. Other risk factors that influence are obesity, hyperlipidemia, and hypertension.

**Table 1.** Characteristics of diabetic gangrene inpatients of JKN participants

| Characteristics of Diabetic Gangrene Patients | Number of Patients<br>(N = 148)<br>n (%) |
|---|--|
| <b>Gender</b>                                 |  |
| - Female                                      | 84 (56.8)                                |
| - Male  | 64 (43.2)                                |
| <b>Age</b>                                    |  |
| - 30 - > 40 years old                         | 1 (0.68)                                 |
| - 40 - > 50 years old                         | 25 (16.89)                               |
| - 50 - > 60 years old                         | 65 (43.92)                               |
| - 60 - > 70 years old                         | 45 (30.40)                               |
| - ≥ 70 years old                              | 12 (8.11)                                |
| <b>Insurance Type</b>                         |  |
| - BPJS Mandiri                                | 146 (95.9)                               |
| - BPJS PBI                                    | 6 (4.1)                                  |
| <b>Treatment Class</b>                        |  |
| - 1   | 45 (30.4)                                |
| - 2   | 34 (23.6)                                |
| - 3   | 68 (45.9)                                |
| <b>Severity Level</b>                         |  |
| - Mild  | 39 (26.35)                               |
| - Moderate                                    | 17 (11.49)                               |
| - Severe                                      | 92 (62.16)                               |
| <b>Returning Condition</b>                    |  |
| - Healed                                      | 4 (2.7)                                  |
| - Control                                     | 140 (94.6)                               |
| - Referred to                                 | 4 (2.7)                                  |

According to the study's findings (Table 1), the age range for most diabetic gangrene patients was between 50 and 60 years old. The research results by Rahmawati & Hargono (2018) showed that the age group of diabetes mellitus patients with neuropathy complications in the range of 50 - 59 years old was the largest age group (52.78%) compared to other age groups. With increasing age, many underlying physiological changes occur. Decreased physiological function with age, such as reduced secretion or insulin resistance, results in suboptimal control of high blood glucose. Uncontrolled sugar levels will lead to long-term chronic complications, one of which is diabetic gangrene.

Data (Table 1) shows that 146 patients (95.9%) were patients who used BPJS Mandiri. BPJS data shows that the most significant composition is BPJS PBI, with 86.4 million people (67%) followed by BPJS Mandiri.

This study shows that the most class of care was in class 3 (Table 1). This research aligns with Rahayuningrum *et al.* (2017) that the care for JKN participants is mostly in grade 3.

Based on Table 1, it can be seen that the most severe level was severe level with a total of 92 patients (62.16%). These results indicate that the Airlangga University Hospital Surabaya as a FKRTL treats more patients with severe severity.

Based on data on the condition of the patients with diabetic gangrene, it is divided into three, namely recovery, control, and referral. The data show that the control condition was the most discharged condition with 140 patients (94.6%) followed by a cured condition and four patients (2.7%) each referred condition. Control discharge condition is when the patients are required to return to health control through outpatient care. Control conditions are needed to determine clinical improvement, especially in areas infected with diabetic gangrene.

**Secondary diagnosis and action**

According to INA CBG claim data, there were 12 types of secondary diagnoses from January to December

2017 (Table 2). A secondary diagnosis is a diagnosis that accompanies the primary diagnosis at the time of admission or occurs during an episode of care. Secondary diagnosis represents comorbidities and/or complications (Kementerian Kesehatan RI, 2016).

Based on Table 2, the most secondary diagnosis in diabetic gangrene patients was sepsis, with a total of 89 patients (39%). This result is in line with the research of Fortuna (2016), showing that the most complication in diabetes patients with ulcers/gangrene is sepsis (38.30%).

**Table 2.** Distribution of secondary diagnosis of diabetic gangrene inpatients of JKN participants

| Secondary distribution   | Number of Patients<br>(N = 148)<br>n (%) |
|--|--|
| <i>Anaemia, unspecified</i>  | 3 (1.3)                                  |
| <i>Congenital mitral insufficiency</i>                             | 1 (0.4)                                  |
| <i>Disorders of magnesium metabolism</i>                           | 1 (0.4)                                  |
| <i>Hyperkalaemia</i>   | 2 (0.9)                                  |
| <i>Hypertensive heart disease with congestive heart failure</i>    | 1 (0.4)                                  |
| <i>Hypertensive heart disease without congestive heart failure</i> | 1 (0.4)                                  |
| <i>Hypo-osmolality and hyponatraemia</i>                           | 6 (2.7)                                  |
| <i>Hypokalaemia</i>  | 2 (0.9)                                  |
| <i>Mild protein-energy malnutrition</i>                            | 1 (0.4)                                  |
| <i>Pleural effusion, not elsewhere classified</i>                  | 1 (0.4)                                  |
| <i>Septicemia, unspecified</i>                                     | 89 (39.4)                                |
| <i>Tb lung without mention of bact or histological confirm</i>     | 1 (0.4)                                  |
| <i>No Secondary Diagnosis</i>                                      | 39 (17.3)                                |

Based on Table 3, there were eight types of actions carried out in treating diabetic gangrene patients in the period of January - December 2017. The least number of activities was no action, with the highest number of 54 patients, followed by non-excisional debridement of

wound, infection, or burn action. Nonexcisional debridement of wound, infection, or burn action is surgical intervention. Surgical operations of the skin and subcutaneous tissue excise and remove necrotic lesions of skin and subcutaneous tissue.

**Table 3.** Distribution of actions for diabetic gangrene inpatients of JKN participants

| Actions  | Number of Patients (N = 148) n (%) |
|--|------------------------------------|
| <i>Amputation above knee</i>   | 1 (0.4)                            |
| <i>Amputation of toe</i>   | 18 (8.0)                           |
| <i>Excisional debridement of wound, infection, or burn</i>           | 1 (0.4)                            |
| <i>Nonexcisional debridement of wound, infection, or burn</i>        | 52 (23.0)                          |
| <i>Other amputation below the knee</i>                               | 4 (1.8)                            |
| <i>Other incisions with drainage of skin and subcutaneous tissue</i> | 17 (7.5)                           |
| <i>Other skin graft to other sites</i>                               | 1 (0.4)                            |
| <i>No Action</i>   | 54 (23.9)                          |

According to research at Semarang Hospital (Pemayun & Naibaho, 2017), debridement (44%) and abscess incision or drainage (31%) are most often performed primarily in patients with grades 3 and 4 based on the Wagner classification. Diagnostic data and  
P-ISSN: 2406-9388  
E-ISSN: 2580-8303

data on actions and procedures obtained from medical record data files affect the grouper results in the INA CBG application.

This period was obtained based on Table 4, 10 kinds of INA CBG codes in diabetic gangrene patients. The

most diabetic gangrene patients were in the code group of I-4-15-III, namely blood vessel disease and others, with a total of 78 patients (52.7%). The main diagnosis in this code is *Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus with Peripheral Circulatory Complications* with the

second most frequent diagnosis was *septicemia, unspecified*, namely as many as 73 (94.80%) patients from 78 patients. The most frequent action in this code was *Nonexcisional debridement of wound, infection, or burn* action with a total of 35 patients (44.87%).

**Table 4.** Distribution of INA CBG codes for diabetic gangrene inpatients of JKN participants

| INA CBG Code | Description                             | Total (N = 148) n (%) |
|--------------|---|-----------------------|
| I-4-15-I     | Vascular Diseases and Others (Mild)     | 29 (19.6)             |
| I-4-15-II    | Vascular Diseases and Others (Moderate) | 15 (10.1)             |
| I-4-15-III   | Vascular Diseases and Others (Severe)   | 78 (52.7)             |
| L-1-30-I     | Skin Transfer Without Burns (Mild)      | 1 (0.7)               |
| M-1-02-I     | Amputation (Mild)                       | 1 (0.7)               |
| M-1-02-III   | Amputation (Severe)                     | 4 (2.7)               |
| M-1-30-I     | Foot Procedure (Mild)                   | 8 (5.4)               |
| M-1-30-II    | Foot Procedure (Moderate)               | 1 (0.7)               |
| I-4-15-I     | Foot Procedure (Severe)                 | 10 (6.8)              |
| I-4-15-II    | Soft Tissue Procedure (Moderate)        | 1 (0.7)               |

**INA CBG rate and the actual cost of diabetic gangrene patients**

INA CBG rate is a package rate that covers all components of hospital resources used in both medical and non-medical services (Kementerian Kesehatan RI, 2016). INA CBG rate in diabetic gangrene patients is varied. The highest INA CBG rate is at code of M-1-02-

III class 1, namely amputation with a severe severity of IDR 34,942,100. Research data from Ozan *et al.* (2019) show that the incidence of amputation occurs due to the influence of risk factors such as age, Wagner’s classification, long duration of diabetes mellitus, long duration of having diabetic ulcer, and level of C-reactive protein.

**Table 5.** INA CBG rate for diabetic gangrene inpatients of JKN participants

| INA CBG Grouping | Class | Number of Patients (N = 148) | INA CBG Rate (IDR)     |
|------------------|-------|------------------------------|------------------------|
| I-4-15-I         | 1     | 9                            | 6,092,500              |
|                  | 2     | 5                            | 5,222,100              |
|                  | 3     | 15                           | 4,351,800              |
| I-4-15-II        | 1     | 3                            | 8,288,400              |
|                  | 2     | 7                            | 7,104,400              |
|                  | 3     | 5                            | 5,920,300              |
| I-4-15-III       | 1     | 29                           | 9,946,100              |
|                  | 2     | 15                           | 8,525,200              |
|                  | 3     | 34                           | 7,104,400              |
| L-1-30-I         | 1     | 1                            | 12,074,600             |
| M-1-02-I         | 2     | 1                            | 18,173,700             |
| M-1-02-III       | 1     | 1                            | 34,942,100             |
|                  | 3     | 3                            | 24,958,600             |
| M-1-30-I         | 1     | 2                            | 11,879,900             |
|                  | 2     | 6                            | 10,182,800             |
| M-1-30-II        | 3     | 1                            | 13,750,200             |
| M-1-30-III       | 1     | 1                            | 27,526,100             |
|                  | 2     | 2                            | 23,593,800             |
|                  | 3     | 7                            | 19,661,500             |
| M-1-50-II        | 3     | 1                            | 8,590,000              |
| <b>Total</b>     |       | <b>148</b>                   | <b>1,365,047,500 *</b> |

Note: \*: Total of INA CBG rates from 148 patients

Based on Table 5, the total INA CBG rate was IDR 1,365,047,500 with an average of 9,233,293.92 ± 5,108,117,888. The actual cost of diabetic gangrene patients for January - December 2017 varied from the P-ISSN: 2406-9388 E-ISSN: 2580-8303

smallest IDR 1,377,796 and the highest IDR 28,670,452. Real cost under IDR 5,000,000 was occupied by 37 patients, and then 67 patients ranged from IDR 6,000,000 to IDR 10,000,000.00. In the range

of IDR 11,000,000 - IDR 15,000,000.00, there were 31 patients, and in the range of IDR 16,000,000 - IDR 20,000,000.00 was with 8 patients and the remaining 5 patients were at cost above IDR 20,000,000.00.

The research data from Tables 5 and 6 show nine groups of INA CBG rates based on treatment class in which the average actual cost was greater than the INA CBG rate. Moreover, 11 code groups with a lower average actual cost than the INA CBG rate were obtained.

The code L-1-30-I shows a big difference between actual cost and INA CBG rate based on these data. The real cost is 21,750,822.00 while the INA CBG rate is 12,074,600.00. The research data showed that the code L-1-30-I contained one patient without a secondary diagnosis with other skin graft to other sites procedures with four days of treatment. According to ICD-9-CM other skin grafts to other sites include skin and subcutaneous tissue operations, including skin excision for autogenous grafts. Research data Santema *et.al.* (2017) showed an increase in the healing rate of foot ulcers in diabetic patients compared to standard care (Risk Ratio (RR) 1.55, Confidence Interval (CI) 1.30 to 1.85). However, the study states that cost-effectiveness is uncertain. As is the case in the study, although the

treatment duration is according to the standard, the cost of skin grafts is quite high.

Table 6 shows actual cost variations in one code that contains three different types of classes. Code I-4-15-III indicates that a high actual cost does not always accompany high class. The actual cost of class 1 is higher than that of class 2 and class 3. However, the actual cost of class 2 is lower than class 3. The results show that the highest number of secondary diagnoses in code I-4-15-III is Septicemia, Unspecified with 73 of 78 patients (93.58%), accompanied by the most actions, namely 43 of 78 patients (55.12%). The length of treatment for patients with code I-4-15-III ranged from 1 to 13 days, with the most length of treatment being four days (28.2 %). This situation is a sign of actual cost variation in this code.

Actual cost variations can be reduced by standardizing inputs and processes. Drugs and AMHP are the input standards in question. The Hospital Formulary is created by considering hospital drug procurement standards and prescription writing standards based on procurement acquisition. Clinical practice guidelines and clinical pathways are examples of process standards. The establishment of process standards impacts the decision-making process for sick input standards (Kementerian Kesehatan RI, 2014).

**Table 6.** The average real cost for diabetic gangrene inpatients of JKN participants

| INA CBG Grouping | Class | Total | Average Real Cost (IDR) |
|------------------|-------|-------|-------------------------|
| I-4-15-I         | 1     | 9     | 8,505,972 ± 3,380,116   |
|                  | 2     | 5     | 7,936,194 ± 2,985,572   |
|                  | 3     | 15    | 4,059,528 ± 2,659,078   |
| I-4-15-II        | 1     | 3     | 8,436,399 ± 4,263,234   |
|                  | 2     | 7     | 8,296,446 ± 2,633,580   |
|                  | 3     | 5     | 9,160,104 ± 1,455,251   |
| I-4-15-III       | 1     | 29    | 12,098,043 ± 5,587,691  |
|                  | 2     | 15    | 6,828,472 ± 4,043,572   |
|                  | 3     | 34    | 7,750,157 ± 3,369,101   |
| L-1-30-I         | 1     | 1     | 21,750,822              |
| M-1-02-I         | 2     | 1     | 13,122,850              |
| M-1-02-III       | 1     | 1     | 20,146,329              |
|                  | 3     | 3     | 19,307,217 ± 8,128,131  |
| M-1-30-I         | 1     | 2     | 9,344,510 ± 448,426     |
|                  | 2     | 6     | 11,134,614 ± 1,271,618  |
| M-1-30-II        | 3     | 1     | 6,621,607               |
| M-1-30-III       | 1     | 1     | 8,919,956               |
|                  | 2     | 2     | 11,949,258 ± 2,911,015  |
|                  | 3     | 7     | 11,014,274 ± 2,107,367  |
| M-1-50-II        | 3     | 1     | 7,340,602               |
| Total            |       | 148   | 1,339,949,381 *         |

Note: \*: Total of INA CBG rate from 148 patients

The real cost components consist of laboratory examination cost, radiology examination cost, drug and consumable medical equipment (AMHP) costs, medical equipment rental cost, PMI cost, oxygen cost, medical

service cost, and room rental cost. The real cost components of diabetic gangrene inpatients are shown in Table 7.

**Table 7.** Components of real cost of diabetic gangrene inpatients of JKN participants

| Cost components                    | Total (IDR)   | Percentage | Average (IDR)                |
|------------------------------------|---------------|------------|------------------------------|
| Laboratory Examination Cost        |               |            |                              |
| Clinical Pathology Laboratory Cost | 71,123,700    | 5 - 30     | 500,871.13 ± 358,499.932     |
| PA Laboratory Cost                 | 1,668,000     | 0.12       | 417,000.00 ± 70,800.000      |
| Microbiology Laboratory Cost       | 5,545,000     | 41         | 616,133.33 ± 210,914.390     |
| Parasitology Laboratory Cost       | -             |            | -                            |
| Radiology Examination Cost         | 18,742,000    | 1.39       | 208,244.44 ± 141,068.978     |
| Drug and AMHP Costs                |               |            |                              |
| Drug and AMPHP IRNA Costs          | 162,158,591   | 12.10      | 1,095,666.16 ± 917,526.481   |
| Drug and Surgical AMPHP Costs      | 116,140,585   | 8.66       | 784,733.68 ± 858,167.496     |
| Medical Equipment Rental Cost      | 43,669,567    | 3.25       | 432,371.95 ± 316,988.217     |
| PMI Cost                           | 20,365,000    | 1.51       | 565,694.44 ± 533,206.142     |
| Oxygen Cost                        | 18,645,000    | 1.37       | 810,652.17 ± 514,081.936     |
| Medical Service Cost               | 817,671,353   | 61.02      | 5,524,806.44 ± 3,529,927.843 |
| Room Rental Cost                   | 184,800,000   | 13.79      | 1,248,648 ± 852,785.471      |
|                                    | 1,339,949,381 |            | 9,053,712.03 ± 4,825,753.168 |

Based on Table 7, the most significant component that made up the real cost component was the cost component for medical services with an average cost of 5,524,806.44 ± 3,529,927,843 for a total of IDR 817,671,353 (61.02%). Mufarrihah (2016) research on the neonatal case at Dr Sardjito Yogyakarta shows that the most significant cost component is the cost of medical services with the cost of examining doctor,

consultant, and visite with 27.3% of the total cost of patient care and cost of action or procedures of 17.27%.

Comparing the actual total cost and the total INA CBG rate in diabetic gangrene patients showed a p-value of 0.000 (Table 8). This result illustrates a statistically significant difference between actual cost and the INA CBG rate.

**Table 8.** Difference between real cost and INA CBG rate for diabetic gangrene inpatients of JKN participants

| Total Real Cost (IDR) | Total INA CBG Rate (IDR) | p*    |
|-----------------------|--------------------------|-------|
| 1,339,949,381         | 1,365,047,500            | 0.000 |

Note: \* Independent samples t-test

Normality test, normally distributed data

The total actual cost was IDR 1,339,949,381, and the total INA CBG rate was IDR 1,365,047,500. Some of the previous studies are researches on inpatients in Solo, Boyolali, and Karanganyar (Rahayuningrum *et al.*, 2016) and ischemic stroke patients at RSUD Dr Soetomo Surabaya (Putri, 2016), showing that the INA CBG rate is higher than the actual cost. Presidential Regulation Number 12 of 2013 concerning Health Insurance as amended by Presidential Regulation Number 111 of 2013 INA CBG rates is reviewed at least every two years. Efforts to review rates aim to make rates more in line with the actual costs of services provided by hospitals (Kementerian Kesehatan RI, 2014). The calculation of the total actual cost is based on the cross-subsidy process in the research year. It is hoped that there will be a tariff review, especially on

codes with a large range of actual cost and INA CBG rate differences.

The results of this study are expected to provide input for more efficient cost control aspects while still providing better service quality. Research It is necessary to take a sample at the research site with a larger number of samples so that it is expected to obtain more varied data on codes and classes regarding the cost analysis of inpatient diabetic gangrene.

**CONCLUSION**

The results showed that the cost of medical services was the highest actual cost component for diabetic gangrene inpatients in Universitas Airlangga Hospital in 2017. The cost comparison results show that there was a difference between the actual cost and the INA CBG rate

for inpatients with diabetic gangrene in Universitas Airlangga Hospital in 2017.

## REFERENCES

- Chun, D., Kim, S., Kim, J., Yang, H., Kim, J., Cho, J., Yi, Y., Kim, W. & Won. S. (2019). Epidemiology and Burden of Diabetic Foot Ulcer and Peripheral Arterial Disease in Korea. *Journal of Clinical Medicine*; 8; 1-8.
- Fitria, E., Nur, A., Marissa, N. & Ramadhan, N. (2017). Karakteristik Ulkus Diabetikum pada Penderita Diabetes Mellitus di RSUD dr. Zainal Abidin dan RSUD Meuraxa Banda Aceh. *Buletin Penelitian Kesehatan*; 45; 153-160.
- Fortuna, S. (2016). Studi Penggunaan Antibiotika pada Pasien Diabetes melitus dengan Ulkus dan Gangren (Penelitian dilakukan di Instalasi rawat Inap Rumah Sakit Universitas Airlangga Surabaya). *Skripsi*; Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.
- Hidayani, M. (2016). Komparasi Biaya Riil dengan Tarif INA CBGs dan Analisis Komponen Biaya yang Berpengaruh pada Pasien Stroke Hemoragi Rawat Inap Peserta JKN di Rumah Sakit Kabupaten Pekalongan. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Kementerian Kesehatan RI. (2014). Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 27 Tahun 2014 tentang Petunjuk Teknis Sistem Indonesian Case Base Groups (INA CBGs). Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kementerian Kesehatan RI. (2016). Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 76 Tahun 2016 tentang Standar Tarif Pelayanan Kesehatan dalam Penyelenggaraan Program Jaminan Kesehatan. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Li, Q., Wang, X., Ni, Y., Hao, H., Liu, Z., Wen, S., Shao, X., Wu, X., Yu, W. & Hu, W. (2019). Epidemiological Characteristics and Risk Factors of T2DM in Chinese Premenopausal and Postmenopausal Women. *Lipids in Health and Disease*; 18; 1-8.
- Lilissuriani, Saputra, I. & Ruby, M. (2017). Perbedaan Biaya Riil Rumah Sakit dan Tarif INA-CBG untuk Kasus Katastropik dengan Penyakit Jantung Koroner pada Pasien Rawat Inap Peserta Jaminan Kesehatan Nasional di Rsuza. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Aceh*; 3; 198-205.
- Lu, Q., Wang J., Wei, X., Wang, G., Xu, Y., Lu, Z. & Liu, P. (2020). Cost of Diabetic Foot Ulcer Management in China: A 7-Year Single-Center Retrospective Review. *Diabetes Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*; 13; 4249-4260.
- Mufarrihah, Andayani, T. M. & Suparniati, E. (2016). Biaya Perawatan Pasien Neonatal JKN Rawat Inap di Rumah Sakit Umum Pusat. *Jurnal Manajemen dan Pelayanan Obat dan Amhp. Jurnal Manajemen dan Pelayanan Farmasi*; 6; 101-114.
- Muslimah, Andayani, T. M., Pinzon, R. & Endarti, D. (2017). Perbandingan Biaya Riil Terhadap Tarif INA-CBG's Penyakit Stroke Iskemik di RS Bethesda Yogyakarta. *Jurnal Manajemen dan Pelayanan Farmasi*; 7; 105-114.
- Ozan, F., Gürbüz, K., Çelik, İ., Dursun, Z. B. & Uzun, E. (2017). Evaluation of Major and Minor Lower Extremity Amputation in Diabetic Foot Patients. *Turkish Journal of Medical Sciences*; 47; 1109-1116.
- Pemayun, T. G. D. & Naibaho, R. M. (2017). Clinical Profile and Outcome of Diabetic Foot Ulcer, a View from Tertiary Care Hospital in Semarang, Indonesia. *Diabetic Foot & Ankle*; 8; 1-8.
- Putri, A. (2016). Analisis Perbandingan Biaya Pelayanan Stroke Iskemia dengan Komorbiditas dan Komplikasi Berdasarkan Biaya Riil dengan Klaim INA-CBG's (Penelitian dilakukan di SMF Ilmu Penyakit Saraf RSUD Dr. Soetomo Surabaya). *Tesis*; Program Studi Magister Obat dan Klinis Universitas Airlangga, Surabaya.
- Rahayuningrum, I., Tamtomo, D. & Suryono. (2016). Comparison Between Hospital Inpatient Cost and INA-CBGs Tariff of Inpatient Care in the National Health Insurance Scheme in Solo, Boyolali, and Karanganyar Districts, Central Java. *Journal of Health Policy and Management*; 1; 102-112.
- Rahmawati, A. & Hargono, A. (2018). Faktor Dominan Neuropati Diabetik Pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Berkala Epidemiologi*; 6; 60-68.
- Santema. T. B., Poyck, P. P. & Ubbink, D. T. (2017). Skin Grafting and Tissue Replacement for Treating Foot Ulcers in People with Diabetes (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews*; 2; 1-74.
- Wang, A., Lv, G. Cheng, X., Ma, X. Wang, W., Gui, J., Hu, J., Lu, M., Chu, G., Chen, J., Zhang, H., Jiang, Y., Chen, Y., Yang, W., Jiang, L., Geng, H.,



World Health Organization (WHO). (2016). Global Report in Diabetes. Switzerland: WHO Press.  
Zheng, R., Li, Y., Feng, W., Johnson, B., Wang, W., Zhu, D. & Hu, Y. (2020). Guidelines on

Multidisciplinary Approaches for the Prevention and Management of Diabetic Foot Disease (2020 edition). *Burns & Trauma*; 8; 1-52.

## Linguistic Validation of Indonesian Version of the Audit of Diabetes-Dependent Quality of Life Questionnaire

Putri Amelia Rooswita<sup>1</sup>, Yunita Nita<sup>2\*</sup>, Elida Zairina<sup>2</sup>, Gesnita Nugraheni<sup>2</sup>, Libriansyah<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Magister Program of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

<sup>2</sup>Department of Pharmacy Practice, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

<sup>3</sup>Department of Internal Medicine, Dr. Ramelan Navy Hospital Surabaya, Surabaya, Indonesia

\*Corresponding author: yunita-n@ff.unair.ac.id

Submitted: 6 July 2021

Accepted: 9 August 2021

Published:

### Abstract

**Background:** One of the impacts experienced by diabetes mellitus patients is a decrease in their quality of life. The Audit of Diabetes-Dependent Quality of Life (ADDQoL) is a widely used individualized diabetes-specific quality of life measure. However, there was no version available in the Indonesian language. **Objective:** This study is aimed to undertake linguistic validation, including a cultural adaptation of the ADDQoL questionnaire into the Indonesian language. **Method:** The original developer granted permission to use and modify the questionnaire. The international linguistic validation procedure developed by the Mapi Research Institute was used. There were six steps involved: forward translation, reconciliation, back translation, expert panel review by a psychologist and clinician, cognitive debriefing with diabetes patients, and proofreading. **Result:** Problems that arose during the linguistic validation process were resolved by finding conceptually equivalent alternatives and changing sentence structures to achieve equivalence in language, concept, and culture with the original version of the ADDQoL. The developer's team reviewed and discussed all actions taken. Cognitive debriefing interviews with five respondents showed that the ADDQoL questionnaire was simple to understand. **Conclusion:** The Indonesian version of the ADDQoL is linguistically and culturally validated. Further studies are needed to confirm the structure and reliability of the Indonesian ADDQoL.

**Keywords:** ADDQoL, diabetes mellitus, cultural adaptation, quality of life, linguistic validation

### Abstrak

**Pendahuluan:** Salah satu dampak yang dialami oleh pasien diabetes melitus adalah penurunan kualitas hidup. *Audit of Diabetes-Dependent Quality of Life* (ADDQoL) adalah alat ukur kualitas hidup individual spesifik diabetes yang telah banyak digunakan. Namun, tidak ada versi yang tersedia dalam bahasa Indonesia. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk melakukan validasi linguistik, termasuk adaptasi kultural kuesioner ADDQoL ke dalam bahasa Indonesia. **Metode:** Pengembang orisinal telah memberikan izin untuk menggunakan dan memodifikasi kuesioner. Prosedur validasi linguistik internasional yang dikembangkan oleh *Mapi Research Institute* digunakan dalam penelitian ini. Terdapat enam langkah yaitu: terjemahan maju, rekonsiliasi, terjemahan kembali, tinjauan panel ahli oleh psikolog dan dokter, pembekalan kognitif dengan pasien diabetes, dan koreksi. **Hasil:** Permasalahan yang muncul selama proses validasi linguistik diselesaikan dengan menemukan alternatif kata yang setara secara konseptual dan mengubah struktur kalimat untuk mencapai kesetaraan dalam bahasa, konsep, dan budaya dengan versi asli ADDQoL. Tim pengembang meninjau dan mendiskusikan semua tindakan yang diambil. Wawancara pembekalan kognitif dengan lima responden menunjukkan bahwa kuesioner ADDQoL mudah dipahami. **Kesimpulan:** ADDQoL versi bahasa Indonesia telah tervalidasi secara linguistik dan budaya. Studi lebih lanjut diperlukan untuk mengonfirmasi struktur dan keandalan kuesioner ADDQoL Indonesia.

**Kata kunci:** ADDQoL, diabetes, kualitas hidup, validasi, linguistik

## INTRODUCTION

Diabetes mellitus (DM) is a serious long-term condition characterized by an increase in blood sugar level because the body cannot produce enough insulin or effectively use its insulin (International Diabetes Federation, 2019). The prevalence of people with diabetes increases each year. Based on the IDF report in 2019, the number of adults with DM aged 20 - 79 globally was 463 million people, and it is estimated that this number will increase by 51% to 700 million people in 2045. Indonesia is in the 7<sup>th</sup> position of the top 10 countries with the most DM, with 10.7 million people with diabetes (International Diabetes Federation, 2019). A comparison of the number of people with diabetes in Indonesia based on location shows that the prevalence is higher in urban areas than in rural areas, with 1.89% and 1.01%, respectively. In addition, DM affects women (1.78%) more than men (1.21%) (Risksedas, 2018).

Diabetes is a chronic disease requiring long-term treatment. DM can affect various aspects of a person's life. The progression of the disease causes complex and potentially life-threatening complications, but the demands of the treatment regimen also have an impact on patients. Many studies have shown that people with diabetes have a lower quality of life than the general population (Jing *et al.*, 2018)

Good quality instruments that can measure the QoL well are needed to support assessing the quality of life (QoL) of people with diabetes. Two types of instruments can be used: general instruments such as WHOQOL and SF-36 (Kiadaliri *et al.*, 2013), and diabetes-specific instruments like The Audit of Diabetes-Dependent Quality of Life (ADDQoL) (Bradley *et al.*, 1999). One of the advantages of using diabetes-specific instruments over general instruments is that they can cover important aspects of life-related to people who have diabetes (Ostini *et al.*, 2011). There are essential domains such as diet, food and drink, the impact of disease complications, the type of diabetes treatment used (Rubin & Peyrot, 1999), and the impact of diabetes on sexual life (Kizilay *et al.*, 2016). The ADDQoL questionnaire itself has advantages over other questionnaires. For example, it enables patients to respond only to aspects of life that are relevant to them, assess whether the impact of diabetes on these aspects of life is positive or, to varying degrees, negative, and assess the perceived importance of each aspect of life for their quality of life (Singh & Bradley, 2006).

The ADDQoL has been used widely in various countries and has been translated and adapted culturally into multiple languages, including Slovenian (Turk *et*

*al.*, 2014), Japanese (Hirose *et al.*, 2016), Malaysian (Musa *et al.*, 2007), Bulgarian (Levterova *et al.*, 2017), and Chinese (Kong *et al.*, 2011). Studies on the use of ADDQoL in multi-ethnic Asian patients have also shown promising results regarding validity, reliability, and cultural adaptation (Wee *et al.*, 2006). However, according to internationally standardized guidelines, an Indonesian version of the ADDQoL questionnaire that has gone through a linguistic validation process was not available. Because of cultural differences between the original country of the ADDQoL questionnaire and the country where the questionnaire will be used, a simple translation would be insufficient. Therefore, this study aimed to undertake linguistic validation, including the cultural adaptation of the ADDQoL questionnaire into the Indonesian language.

## MATERIALS AND METHODS

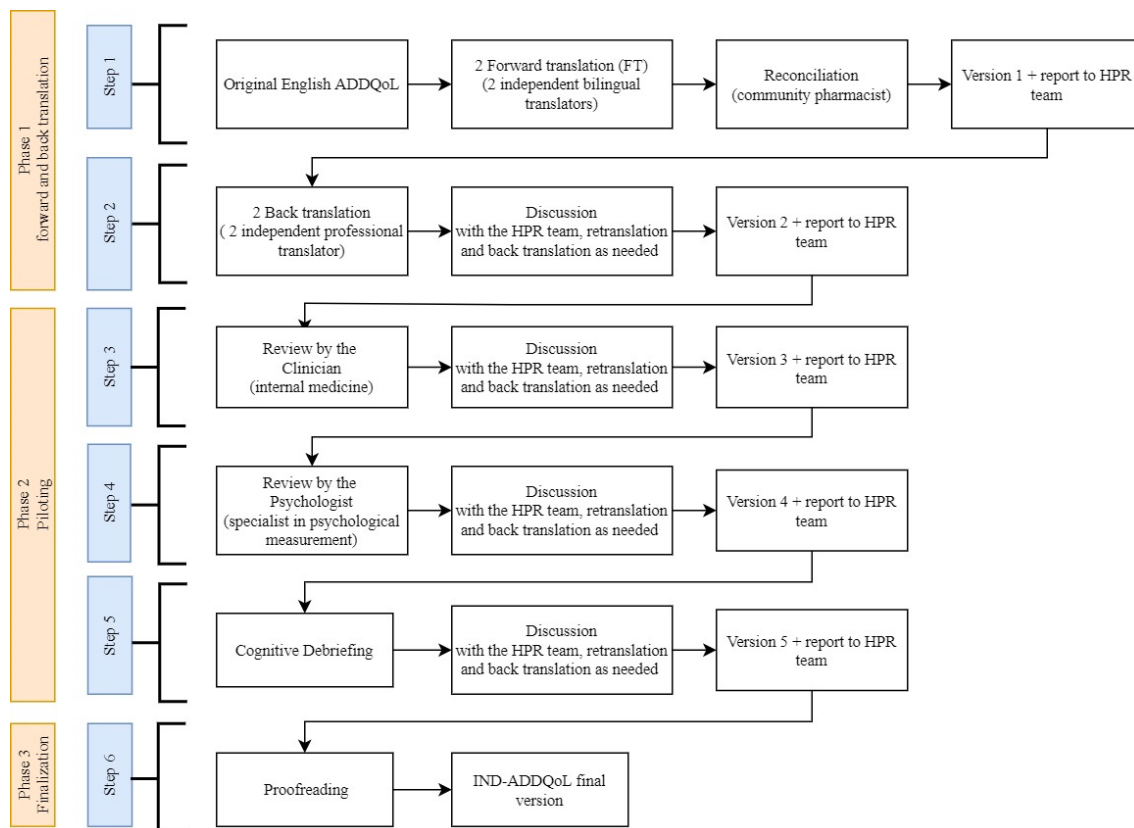
The Audit of Diabetes Dependent Quality of Life audit (ADDQoL) measures the quality of life specific to diabetes in the form of a questionnaire developed by Bradley *et al.* (1999) in UK English. This questionnaire has undergone three revisions, namely ADDQoL-13, ADDQoL-18, and the last one was ADDQoL-19 (Bradley & Gilbride, 2008). The ADDQoL-19 questionnaire assesses the impact of diabetes on 19 life domains of both type 1 and type 2 diabetes patients. The questionnaire has two preliminary items for audit purposes: an item to determine the current quality of life in general and an item to assess the specific impact of diabetes on quality of life. Then, it is followed by 19 domains related to the impact of diabetes on every particular aspect of life (Wee *et al.*, 2006).

On the items assessing the quality of life-related to diabetes, the impact of diabetes on the life domain is evaluated on a scale of -3 (maximum negative impact) to +1 (maximum positive impact) and for how important the life domain is rated on a scale of 0 (not at all important) to +3 (very important). The weighted score from each domain is calculated by multiplying the diabetes impact score by the importance value. Then, to get the average weighted score (Average Weighted Impact/AWI) or the ADDQoL score, it is calculated by adding up all the weighted scores from each completed domain divided by the number of completed domains. The AWI score ranges from -9 (maximum negative impact of diabetes on quality of life) to +3 (maximum positive impact of diabetes on quality of life) (Bradley *et al.*, 2018).

The questionnaire was linguistically validated using international guidelines developed by Mapi Research

Institute (Acquadro *et al.*, 2008). The procedure was divided into three main phases. The first phase was the forward translation, reconciliation, and back translation steps; the second phase included piloting, a review by doctor and psychologist and cognitive debriefing with people who have diabetes; and the third phase was the finalization step, which included formatting and

proofreading as shown in Figure 1. The original developer granted permission for the linguistic validation of the ADDQoL questionnaire. The results of each stage were reported and discussed with the linguistic validation team at Health Psychology Research (HPR) Ltd (the company that licenses Clare Bradley's questionnaires).



**Figure 1.** The stages of translation and cultural adaptation of the Indonesian version of the ADDQoL questionnaire using the linguistic validation method

**Step 1 - forward translation**

The UK English version of the ADDQoL-19 questionnaire was translated into Indonesian by two professional translators. They were both translators at the Language Center of Universitas Airlangga, native Indonesian speakers, who were fluent in English, and lived in Indonesia. Each translator worked independently in producing one of the two versions of the forward translation (FT1 and FT2).

**Step 2 - reconciliation**

A reconciler combined the two Indonesian translations (FT1 and FT2) to produce the first Indonesian version. The reconciler was a community pharmacist who spoke native Indonesian and English fluently. This stage involved comparing, combining, and resolving the differences between the two translations.

**Step 3 - back translation**

The first reconciled Indonesian version of the ADDQoL-19 questionnaire was then translated back into English by two translators. One translator was a native Indonesian speaker fluent in English, a professional translator from the Faculty of Humanities - English Department of Universitas Airlangga, and had experience with forward-backwards translation. The other translator (commissioned by HPR Ltd) was a native UK English speaker, a professional translator who also spoke Indonesian fluently. The original English questionnaire was not provided to the two back-translators. To achieve conceptual equivalence, a review by the HPR team identified any discrepancies in meaning between the back translations and the original English ADDQoL. The reconciled FT was checked and edited as needed and back-translated again. This was repeated until the back translation reflected the English

source accurately. An interim version of the ADDQoL-19 in Indonesian was prepared for review by a clinician and psychologist.

**Step 4 - committee review/expert panel**

Two expert panels then reviewed the interim Indonesian ADDQoL questionnaire from the back translation step. The ADDQoL questionnaire is related to diabetes and quality of life, so the criteria for the expert panel conducting the reviews were an Internal Medicine Specialist, an Endocrine, Metabolic, and Diabetes Consultant, and a psychologist who had experience in designing a questionnaire. At this stage, the clinician review took place before the psychologist review. All suggestions and improvements from the two expert reviewers were documented and discussed with the HPR team.

**Step 5 - cognitive debriefing**

The expert reviewers' approved wording for the Indonesian ADDQoL questionnaire was tested on five respondents selected to represent the target population. People with diabetes mellitus, including those with type 1 and type 2 diabetes on various treatment regimens with varied sexes, ages, occupations, and levels of education were involved in this process. During the interview, this process can be carried out by having the respondent complete the questionnaire from start to finish on their own. The interviewer checks the questionnaire with the respondent to assess understanding of the instructions, meaning of items, response options, and ease of reading all the sentences in the questionnaire. The respondents are asked to provide their comments as they complete the questionnaire to check for comprehension problems. All suggestions and improvements from the respondents were documented and reviewed by the Indonesian linguistic validation coordinator and HPR team.

**Step 6 - formatting and proofreading**

The formatting step was carried out to ensure that the format and form of the ADDQoL questionnaire, which had been culturally adapted to the target language, remained consistent with the original version,

including letter type and size. Format changes and adjustments were made if a font other than the original version was used, such as Japanese, Korean, Chinese, and others. On the other hand, the proofreading step was carried out by a native speaker of the target language (Indonesian) to ensure that there were no errors in writing, grammar, spelling, or punctuation.

**Ethics committee approval**

This study was approved by the Health Research Ethics Committee, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga (No.14/LE/2020).

**RESULTS AND DISCUSSION**

The translation and adaptation of the Indonesian version of the ADDQoL questionnaire in this study followed the linguistic validation procedure developed by Mapi Research Institute (Acquadro *et al.*, 2004). Several other studies on the adaptation of an English version of various instruments for Indonesia used different methods such as the Premature Infant Pain Profile-Revised (PIPP-R) using the Brislin method (Fitri *et al.*, 2019), the Diabetes Distress Scale using the guidelines from the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) (Arifin *et al.*, 2017). The Pain Detect Questionnaire (PDQ) using the guidelines from the International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research (ISPOR) (Margareta *et al.*, 2017). So far, there has been no empirical study or gold standard for the guidelines of the instrument adaptation process. Each method has requirements, qualifications, or characteristics of the people involved in the process. However, the evidence has shown a meticulous multistep approach with a centralized review procedure allows for better translations (Acquadro *et al.*, 2008). The adaptation method in this study or in previous studies are commonly used methods. The selection is based on the provisions or recommendations by each of the original questionnaire developers.

**Table 1.** Problems and solutions in the process of translation and cultural adaptation of the ADDQoL questionnaire

| Item        | Original version  | Problems  | Actions  |
|-------------|---|---|--|
| Instruction | Now we would like to know how your quality of life is affected by your diabetes, its management and any complications you may have. | If translated literally without any additional explanation, the word "management" would be difficult to understand and might cause a difference in meaning from the original version. | As an alternative, the word "management" was translated into Indonesian as "penanganannya" or "treatment" in English and included an additional explanation in brackets after the word.<br>*** (including medication, visit to the doctor, and diet) |

|                 |   |  |   |
|-----------------|---|--|---|
| Instruction     | This questionnaire asks about your quality of life – in other words how good or bad you feel your life to be. | When re-translated, the sentence "how good or bad you feel your life to be" transformed into "how good or bad the life that you experience". This sentence had a different meaning from the original version because the quality of life referred to in the ADDQoL questionnaire was how a person described feelings about his or her life, not how good or bad his or her life was.                             | Re-translation was done by revising the Indonesian translation to " <i>Seberapa baik atau buruk Anda merasakan hidup Anda</i> " ("how good or bad you feel your life")  |
| Overview item 2 | Are you currently working, looking for work, or would you like to work?                                       | During the pre-test interview, many respondents said this question was quite difficult to understand and confusing because there were three questions in one sentence to determine a yes/no answer. Some suggested changing the format and separating each question.   | Format changes were not permitted for reasons of maintaining consistency in all language versions of the ADDQoL questionnaire. Finally, it was decided to add the word " atau " ("or") to emphasize and differentiate the three questions into " <i>Apakah saat ini Anda sedang bekerja atau sedang mencari kerja atau apakah Anda ingin bekerja?</i> " (Are you currently working or looking for work or would you like to work? "). |
| Response 1b     | very important – important – somewhat important – not at all important  | "Important" was translated as " <i>penting</i> " and "somewhat important" was translated as " <i>cukup penting</i> " in Indonesian. At the back-translation stage the phrase " <i>cukup penting</i> " was back-translated as "somewhat important" and "quite important" by the two back-translators. This led to discussions whether " <i>penting</i> " is stronger than " <i>cukup penting</i> " in Indonesian. | It was confirmed at the back-translation stage, as well as in cognitive debriefing interviews with patients, that in Indonesian " <i>penting</i> " ("important") is stronger than " <i>cukup penting</i> " ("somewhat important"/"quite important"). No changes were made.  |
| 2b              | For me, having a working life is  | Inaccuracy in the translation of the sentences "having a working life" into Indonesian, which was " <i>memiliki pekerjaan</i> " ("having a work/job").   | Revision to the Indonesian translation had been made to match what was meant by the original version to " <i>memiliki kehidupan bekerja</i> " ("having a working life")   |
| 5b              | For me, how much I can do physically is   | Inaccuracy in the translation of the word "do physically" to " <i>kegiatan fisik</i> " ("do physical activity").   | Re-translation was done by revising the Indonesian translation into " <i>secara fisik</i> " ("physically").   |
| 17a             | If I did not have diabetes, I would have to depend on others when I do not want to                            | If translated literally, many of the respondents said that the statement sentence was too complicated and not easy to understand. They had to read repeatedly and were slow to respond to this item.   | Revision was made by changing the sentence structure to " <i>ketergantungan saya terhadap orang lain walaupun saya tidak menginginkannya akan</i> " ("my dependence on others   |

|     |   |   |   |
|-----|---|---|---|
| 19a | If I did not have diabetes, my freedom to drink as I wish (e.g. fruit juice, alcohol, sweetened hot and cold drinks) would be | Translation of the word "sweetened" to "pemanis" in Indonesian differs from the concept referred to in the original version. Culturally, most Indonesians considered "pemanis" to be chemical substances added to food or beverages as a substitute for real sugars such as saccharin or aspartame. | even though I don't want it would be")<br>The sentence "sweetened hot and cold drinks" was changed into "hot and cold drinks with sugar". |
|-----|---|---|---|

The title of the questionnaire was not translated and was retained in the abbreviated ADDQoL form. Some of the problems and actions that were taken during the

process are described in Table 1. Next, on the cognitive debriefing stage, the respondents' characteristics are presented in Table 2.

**Table 2.** Characteristics of respondents on the cognitive debriefing

| Respondents | Ages (years) | Sexes | Types of DM | Backgrounds of education | Occupations          | Treatment    | Duration of DM (months/years) |
|-------------|--------------|-------|-------------|--------------------------|----------------------|--------------|-------------------------------|
| R1          | 58           | F     | Type 2      | Elementary School        | Housewife            | Insulin+ OAD | 9 years                       |
| R2          | 63           | M     | Type 2      | Elementary School        | Trader               | OAD          | 5 years                       |
| R3          | 53           | M     | Type 2      | Higher Education         | Civil Servant        | Insulin      | 10 years                      |
| R4          | 29           | F     | Type 2      | Higher Education         | Laboratory Assistant | Insulin      | 8 months                      |
| R5          | 40           | F     | Type 1      | Higher Education         | Nurse                | Insulin      | 5 years                       |

Note: F = Female; M = Male; DM = Diabetes Mellitus; OAD = Oral Anti Diabetes

In this study, one of the issues that arose during the back-translation stage was to ensure the correct order of response options on the scale. "Somewhat important" was translated in Indonesian as "cukup penting". This was then back-translated by the two back translators as "somewhat important" and "quite important". In UK English "important" is stronger than "quite important", however, it is the opposite in US English (Bradley *et al.*, 1999). So, we needed to ensure that in Indonesian "penting" ("important") is perceived as stronger than "cukup penting" ("somewhat important" or "quite important"). This was confirmed at the back-translation stage and cognitive debriefing interviews with patients, and no changes were necessary. The results of the Indonesian translations were appropriate to describe the level of response of the original version.

Another problem was the word "sweetened" which was translated as "pemanis" in Indonesian. In Indonesian culture, "pemanis" is often considered to be an artificial sweetener. Therefore, this word did not fit the concept of the original version of a drink with added or containing sugar. This result will certainly provide a

different understanding for the target population where the questionnaire will be used. For this reason, the word change in Indonesian was made to achieve conceptual equivalence with the original version to "with sugar".

In this study, problems with grammar, sentence or item complexity, or which word equivalents were more appropriate were resolved by rewriting with additions, subtractions, other word choices, and repeated translation until equivalence with the original English was achieved. This was also observed in the study of the translation and cultural adaptation of the ADDQoL questionnaire into Norwegian, where the words "statement," "not applicable," and "the effect of your diabetes" were changed (Thulin *et al.*, 2008).

At this stage of cognitive debriefing, five participants were used. The cultural adaptation method used determines the cognitive debriefing criteria and the number of samples required. The linguistic validation method, for example, requires 5 - 10 samples, whereas other methods, such as EORTC, needs 10 - 15 samples, and ISPRO requires 5-8 samples (Acquadro *et al.*, 2008; Wild *et al.*, 2005). The challenge was to find

respondents who met the criteria for type 2 diabetes patients on a diet alone during the recruitment process. The vast majority of diabetic patients are on either oral or insulin therapy. The current numbers and criteria, on the other hand, are fairly representative of the existing target population.

The cognitive debriefing step has the advantage of allowing respondents to analyze difficulties in reading and filling out the questionnaire and to provide suggestions for alternative sentence wording that would be simpler and easier to understand. For example, the sentence in item 17a was difficult to understand for some respondents because the original Indonesian sentence was too complex; thus, rewriting was done based on the respondents' suggestions without changing the meaning or concept of the original version.

The study's limitation is that the linguistically validated Indonesian version of the ADDQoL requires additional research. The current study is only the first step in the process of instrument adaptation and should be followed by psychometric analysis. Psychometric analysis, including validity and reliability testing, is now underway to ensure the quality of the findings when using this Indonesian version of the ADDQoL in studies among the Indonesian-speaking population.

## CONCLUSION

The ADDQoL questionnaire in Indonesian has been linguistically and culturally validated using international standard methods and the participation of experts in their fields using predetermined criteria. A large data collection study is currently underway to allow the psychometric properties of the Indonesian ADDQoL to be determined.

Access to the ADDQoL: please visit [www.healthpsychologyresearch.com](http://www.healthpsychologyresearch.com) for the Indonesian and other language versions of the ADDQoL and other questionnaires developed by Bradley and colleagues.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Prof. Dr. Clare Bradley, who has granted permission to use the Audit of Diabetes Dependent Quality of Life (ADDQoL), the linguistic validation team (Alison Wilson, Anita Bradley-Gilbride, Andriana Koumbarou) who have helped during the adaptation process, and Janet Bayfield and Jonathan Gilbride who provided the license agreement. Also, thanks to all translators (Sidarta Prassettyo, Ahmad Fauzi Rohman, and Retno Wulandari) and Psychologist reviewer (Fitri Andriani) who have taken the time and provided good input in this study.

## REFERENCES

- Acquadro, C., Conway, K., Christelle, G. & I, M. (2004). *Linguistic Validation Manual for Patient-Reported Outcomes (PRO) Instruments*. Lyon: Mapi Research Institute.
- Acquadro, C., Conway, K., Hareendran, A. & Aaronson, N. (2008). Literature Review of Methods to Translate Health-Related Quality of Life Questionnaires for Use in Multinational Clinical Trials. *Value in Health; 11*; 509-521.
- Arifin, B., Perwitasari, D. A., Thobari, J. A., Cao, Q., Krabbe, P. F. & Postma, M. J. (2017). Translation, Revision, and Validation of the Diabetes Distress Scale for Indonesian Type 2 Diabetic Outpatients with Various Types of complications. *Value in Health Regional Issues; 12*; 63-73.
- Bradley, C., Eschwège, E., De Pablos-Velasco, P., Parhofer, K., Simon, D., Vandenberghe, H. & Gonder-Frederick, L. (2018). Predictors of Quality of Life and Other Patient-Reported Outcomes in the PANORAMA Multinational Study of People with Type 2 Diabetes. *Diabetes Care; 41*; 267-276.
- Bradley, C. & Gilbride, C. (2008). Improving Treatment Satisfaction and Other Patient-Reported Outcomes in People with Type 2 Diabetes: the Role of Once-Daily Insulin Glargine. *Diabetes, Obesity & Metabolism; 10*; 50-65.
- Bradley, C., Todd, C., Gorton, T., Symonds, E., Martin, A. & Plowright, R. (1999). The Development of an Individualized Questionnaire Measure of Perceived Impact of Diabetes on Quality of Life: The ADDQoL. *Quality of Life Research; 8*; 79-91.
- Fitri, S. Y. R., Lusmilasari, L. & Juffrie, M. (2019). The Indonesian Version of the Premature Infant Pain Profile-Revised: Translation and Adaptation of a Neonatal Pain Assessment. *International Journal of Nursing Sciences; 6*; 439-444.
- Hirose, A., Fujihara, K., Miyamasu, F., Iwakabe, S., Shimpo, M., Heianza, Y., Horikawa, C., Yachi, Y. & Sone, H. (2016). Development and Evaluation of the Japanese Version of the Audit of Diabetes-Dependent Quality of Life for Patients with Diabetes. *Diabetology International; 7*; 385-390.
- International Diabetes Federation. (2019). *IDF Diabetes Atlas, 9th Edition*. Brussels: International Diabetes Federation.
- Jing, X., Chen, J., Dong, Y., Han, D., Zhao, H., Wang, X., Gao, F., Li, C., Cui, Z., Liu, Y. & Ma, J. (2018). Related Factors of Quality of Life of Type 2 Diabetes Patients: A Systematic Review and



- Meta-analysis. *Health and Quality of Life Outcomes*; 16; 1-14.
- Kiadaliri, A. A., Najafi, B. & Mirmalek-Sani, M. (2013). Quality of Life in People with Diabetes: a Systematic Review of Studies in Iran. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*; 12; 1-10.
- Kizilay, F., Gali, H. & Serefoglu, E. (2016). Diabetes and Sexuality. *Sexual Medicine Reviews*; 5; 1-7.
- Kong, D., Ding, Y., Zuo, X., Su, W., Xiu, L., Lin, M., Rao, S. & Yu, S. (2011). Adaptation of the Audit of Diabetes Dependent Quality of Life Questionnaire to People with Diabetes in China. *Diabetes Research and Clinical Practice*; 94; 45-52.
- Levterova, B. A., Levterov, G. E., Dragova, E. A., Grudeva, T. S. & Kostourkov, Y. L. (2017). Bulgarian Version of the Audit of Diabetes-Dependent Quality of Life (ADDQoL-19). *Biotechnology & Biotechnological Equipment*; 31; 581-587.
- Margareta, K., Aninditha, T., Hakim, M. & Kuniawan, M. (2017). Adaptasi Transkultural Kuesioner painDETECT ke dalam Bahasa Indonesia. *Neurona (Majalah Kedokteran Neuro Sains Perhimpunan Dokter Spesialis Saraf Indonesia)*; 34; 151-158.
- Musa, K. I., Ismail, A. A., Naing, L. & Mohamad, W. (2007). The Reliability and Validity of the Malay Version of the 18-Item Audit of Diabetes Dependent Quality of Life (the Malay ADDQOL) Questionnaire. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*; 38; 398-405.
- Ostini, R., Dower, J. & Donald, M. (2011). The Audit of Diabetes-Dependent Quality of Life 19 (ADDQoL): Feasibility, Reliability and Validity in a Population-Based Sample of Australian Adults. *Quality of Life Research*; 21; 1471-1477.
- Riskesdas. (2018). Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2018. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Rubin, R. R. & Peyrot, M. (1999). Quality of Life and Diabetes. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*; 15; 205-218.
- Singh, H. & Bradley, C. (2006). Quality of Life in Diabetes. *International Journal of Diabetes in Developing Countries*; 26; 7-10.
- Thulin, L. B. B., Iversen, M. & Hanestad, B. R. (2008). Translation and Cultural Adaptation of the Audit of Diabetes-Dependent Quality of Life (ADDQoL) into Norwegian [Oversettelse og Kulturell Tilpasning av Diabetes Spesifikt Livskvalitets Skjema Addqol for Bruk I Norge]. *Vård i Norden Nordic Journal of Nursing Research*; 28; 53-56.
- Turk, E., Rupel, V., Tapajner, A. & Isola, A. (2014). Reliability and Validity of the Audit on Diabetes-Dependent Quality of Life (ADDQoL) and EQ-5D in Elderly Slovenian Diabetes Mellitus Type 2 Patients. *Health*; 6; 699-711.
- Wee, H. -L., Tan, C. -E., Goh, S. -Y. & Li, S. -C. (2006). Usefulness of the Audit of Diabetes-Dependent Quality-of-Life (ADDQoL) Questionnaire in Patients with Diabetes in a Multi-Ethnic Asian Country. *PharmacoEconomics*; 24; 673-682.
- Wild, D., Grove, A., Martin, M., Eremenco, S., Mcelroy, S., Verjee-Lorenz, A. & Erikson, P. (2005). Principles of Good Practice for the Translation and Cultural Adaptation Process for Patient-Reported Outcomes (PRO) Measures: Report of the ISPOR Task Force for Translation and Cultural Adaptation. *Value in Health*; 8; 94-104.