



JURNAL ILMIAH FARMASI AKADEMI FARMASI JEMBER

Volume 2. No. 1 Juli 2017

ISSN 2503-4707

- ❖ **Dewi rashati**
PENGARUH VARIASI KONSENTRASI AMILUM *ZEA MAYS* (L) SEBAGAI BAHAN PENGHANCUR SECARA GRANULASI BASAH TERHADAP SIFAT FISIK TABLET PARASETAMOL

- ❖ **Hadi Barru Hakam F.S**
PENENTUAN KADAR POLIFENOL EKSTRAK TEH TUBRUK KEMASAN DENGAN METODE REMASERASI MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

- ❖ **Kukuh Judy Handojo**
TINGKAT KEPUASAN APOTEK DI WILAYAH LUMAJANG TERHADAP DISTRIBUSI OBAT OLEH PEDAGANG BESAR FARMASI

- ❖ **Siti Nur Azizah**
ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI SELULOLITIK ASAL JERAMI PADI DI PERSAWAHAN BOGOR BARAT

- ❖ **Yulianto Ade Prasetya**
BIOENKAPSULASI YOGHURT *LACTOBACILLUS ACIDOPHILLUS* SEBAGAI ANTIHIPERKOLESTROLEMIA

- ❖ **Yulianto Ade Prasetya**
IDENTIFIKASI GEN TEM ISOLAT KLINIK *ESCHERICHIA COLI* PENGHASIL ESBLs DI RSUD DR. SOETOMO SURABAYA

JIF

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
AKADEMI FARMASI JEMBER
Jl. Pangandaran no. 42 Antirogo Jember

JURNAL ILMIAH FARMASI AKADEMI FARMASI JEMBER

Diterbitkan oleh Akademi Farmasi Jember sebagai terbitan berkala yang menyajikan informasi hasil penelitian dibidang Farmasi.

Kajian ini bersifat ilmiah sebagai hasil pemikiran teoritik dan penelitian empiric. Redaksi menerima karya ilmiah/hasil penelitian atau artikel dibidang Farmasi.

Untuk itu Jurnal Ilmiah Farmasi mengundang para intelektual, praktisi, mahasiswa serta siapa saja untuk bergabung dengan kami. Redaksi berhak menyingkat dan memperbaiki format penulisan sejauh tidak mengubah tujuan isinya. Dilarang mengutip, menerjemahkan atau memperbanyak kecuali dengan izin redaksi.

PELINDUNG

Dra. Sri Handayani P., Apt.

REDAKTUR

Rosida, M.Farm., Apt.

Indah Muflihatin, M.Kes.

PENYUNTING/EDITOR

Hadi Barru Hakam Fajar Siddiq, M.Si.

Tita Rudini Yassin, S.ST.

DESAIN GRAFIS

Abdul Kadir Jaelani

Helmi Tria Fata, S.E

SEKRETARIS

Tunjung Widowati, SAB.

JIF
JURNAL ILMIAH FARMASI

DAFTAR ISI

| | | |
|---|---|-------|
| | Daftar Isi | i |
| 1 | Pengaruh Variasi Konsentrasi Amilum <i>Zea mays</i> (L) Sebagai Bahan Penghancur Secara Granulasi Basah Terhadap Sifat Fisik Tablet Parasetamol Dewi Rashati, Amirul Fauziah | 1-6 |
| 2 | Penentuan Kadar Polifenol Ekstrak Teh Tubruk Kemasan dengan Metode Remaserasi Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis Hadi Barru Hakam Fajar Siddiq, Rizka Della Yunita Dewi, Jati Riyuwani | 7-14 |
| 3 | Tingkat Kepuasan Apotek di Wilayah Lumajang Terhadap Distribusi Obat oleh Pedagang Besar Farmasi Kukuh Judy Handoyo, Pradanu Satria Rakhmanta, Diyan Ajeng R | 15-18 |
| 4 | Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik Asal Jerami Padi di Persawahan Bogor Barat Siti Nur Azizah | 19-28 |
| 5 | Bioenkapsulasi Yoghurt <i>Lactobacillus acidophilus</i> Sebagai Antihiperkolestroleemia Yulianto Ade Prasetya, Khoirun Nisyak | 29-32 |
| 6 | Identifikasi Gen TEM Isolat Klinik <i>Escherichia coli</i> Penghasil ESBLs di Rsud dr. Soetomo Surabaya Yulianto Ade Prasetya | 33-38 |

PENGARUH VARIASI KONSENTRASI AMILUM *Zea mays* (L) SEBAGAI BAHAN PENGHANCUR SECARA GRANULASI BASAH TERHADAP SIFAT FISIK TABLET PARASETAMOL

Dewi rashati^{1*}, Amirul Fauziah¹

¹Akademi Farmasi Jember, Jember, Indonesia

Jl. Pangandaran no 42 Jember Indonesia

*Email: dewi.rashati@yahoo.com

ABSTRACT

*This research is aims to determine the effect of variation concentration starch *Zea mays* (L) as disintegration agent in wet granulation to physical characteristics paracetamo. This research used eperimental method by one shot case study. Paracetamol as active ingredient, starch *zea mays* (L) as desintegrant agent, PVPK30 as binding agent, avicel as filler and Mg stearat as lubricants. The result of SPSS showed significant ($p > 0,05$), that means no difference in the three formulation. The first test is weight uniformity show that from column A and B qualify weight requirement range, hardness test. Showed significant ($p > 0,05$) that means nodifference in the three formulation. Friability test showed significant ($p > 0,05$) the last is disintegration time test showed that significant ($P > 0,05$) no difference in the three formulation. The research of physic characteristic of the tablet showed that hardness test and time test not qualif. Analysis SPSS showed ($p > 0,05$) no difference in the three formulation and amilum had no effect on physical test of paracetamol tablet.*

Keywords : *zea mays* (L), paracetamol, physicial characteristic

PENDAHULUAN

Parasetamol memiliki sifat kompaktilitas dan fluiditas yang kurang baik, sehingga menimbulkan kesulitan sewaktu pengempaan. Untuk obat dengan sifat kompaktilitas yang kurang baik dalam dosis besar paling tepat jika digunakan metode granulasi basah, karena dengan metode granulasi basah tidak memerlukan banyak bahan tambahan yang menyebabkan bobot terlalu besar (Mycek, 2001). Sediaan tablet dapat dibuat melalui tiga macam metode, yaitu granulasi basah, granulasi kering dan kempa langsung. Pemilihan metode pembuatan sediaan tablet ini biasanya disesuaikan dengan karakteristik zat aktif yang akan dibuat tablet, apakah zat tersebut tahan terhadap panas atau lembab, kestabilannya serta besar kecilnya dosis. Parasetamol yang tahan terhadap panas dan kelembaban selama proses granulasi. Cocok dikempa dengan metode granulasi basah. pertikel yang lebih besar dengan menambahkan cairan pengikat

dalam jumlah yang tepat sehingga terjadi massa lembab yang dapat digranulasi (Reiza, 2010).

Bentuk sediaan parasetamol dipasaran berupa tablet, tablet salut selaput, sirup, suspense dan elixir, tablet memiliki kelebihan dibandingkan dengan bentuk sediaan yang lain. Kelebihan tablet diantaranya adalah bentuk sediaan yang utuh dan menawarkan kemampuan terbaik dari semua bentuk sediaan oral untuk ketepatan ukuran serta variabilitas kandungan yang paling rendah, sehingga banyak orang lebih memilih tablet dibandingkan sediaan oral lainnya. Bahan penyusun tablet terdiri dari bahan aktif dan eksipien. Pemilihan eksipien yang tepat adalah merupakan faktor penentu untuk menyusun formulasi tablet pada saat pengempaan. Selain itu, faktor lain yang perlu diperhatikan ialah sifat campuran sebelum dicetak, apakah dapat dicampur dengan baik. Bahan eksipien dalam tablet diantaranya, bahan pengisi, bahan pengikat (*binder*), bahan penghancur (*disintegrant*),

bahan pelicin (*lubricant*) (Lachman *et al*, 1994).

Bahan penghancur merupakan salah satu bahan tambahan yang penting dalam pembuatan tablet. Bahan penghancur berfungsi melawan aksi bahan pengikat dari tablet dan melawan tekanan pada saat penabletan. Bahan ini akan mengikat tablet bila bersentuhan dengan air atau cairan saluran pencernaan. Tablet akan hancur menjadi granul selanjutnya pecah menjadi partikel-partikel halus dan akhirnya obat akan larut (Gunsel *et al*, 1970). Amilum adalah jenis polisakarida yang banyak terdapat di alam, yaitu sebagian besar tumbuhan terdapat pada umbi, daun, batang, dan biji-bijian. Bahan penghancur yang di pilih dalam pembuatan tablet pada penelitian ini adalah amilum *Zea mays*. Amilum *Zea mays* mengandung 28% amilosa dan 72% amilopektin, Amilum jagung berupa serbuk halus, memiliki luas permukaan yang besar. Amilum alami bersifat adhesif sehingga sifat alirnya kurang baik (Ben, *et al.*, 2007).

Konsentrasi amilum *Zea mays* sebagai bahan penghancur biasa digunakan dalam konsentrasi 3-25 % tetapi biasanya yang digunakan 15%. Bahan penghancur ditambahkan untuk memudahkan pecahnya atau hancurnya tablet ketika terjadi kontak dengan cairan saluran pencernaan. Diantara beberapa bahan penghancur, amilum merupakan salah satu bahan penghancur yang paling sering digunakan karena murah dan mudah didapat. Kemampuan amilum sebagai bahan penghancur dipengaruhi oleh amilosa. Hal ini dikarenakan amilosa mampu menyerap air sehingga mempengaruhi proses pengembangan amilum. Sehingga, tablet yang kontak

dengan cairan saluran pencernaan mengembang dan menyebabkan tablet menjadi pecah dan hancur (Jufri, *et al*, 2006).

METODOLOGI PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah *eksperimental – one shot case study*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil dari treatment yang telah diberikan. Dalam metode penelitian ini menggunakan 3 konsentrasi amilum, yaitu 5%, 10% dan 15%. Penelitian yang dilakukan untuk membandingkan hasil dari uji yang telah dilakukan.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian kali ini adalah mortir dan stamper, sendok tanduk, mesin cetak (*rotary single punch*), pencampur bergulir, alat uji kekerasan (*hardness tester*), timbangan analitik, *disintegration tester*, *friability tester*, oven listrik dan blender.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah paracetamol, pvp, amilum *Zea mays* (L), Mg stearat, avicel.

Metode Pembuatan Tablet

Amilum *Zea mays* (5%, 10%, 15%), avicel dan paracetamol dicampur hingga homogeny kemudian dicampur dengan mucilago PVP hingga dibuat massa lembab. Massa diayak menggunakan ukuran 12 mesh dan dikeringkan dengan suhu 40-60⁰C. Granul yang sudah kering diayak dengan ukuran 14 mesh dan ditambahkan magnesium stearat. Granul dikempa dan diuji sifat alir dan sifat fisiknya.

Tabel 1. Formulasi tablet paracetamol

| No | Bahan | Khasiat | Formula I | | Formula II | | Formula III | |
|----|----------------------------|------------------|-----------|-------|------------|-------|-------------|-------|
| | | | % | mg | % | mg | % | mg |
| 1. | Paracetamol | Bahan Aktif | 76,9 | 500 | 76,9 | 500 | 76,9 | 500 |
| 2. | PVP | Bahan Pengikat | 4 | 26 | 4 | 26 | 4 | 26 |
| 3. | Amilum <i>Zea mays</i> (L) | Bahan Penghancur | 5 | 32,5 | 10 | 65 | 15 | 97,5 |
| 4. | Mg stearate | Bahan Pelicin | 2 | 13 | 2 | 13 | 2 | 13 |
| 5. | Avicel | Bahan Pengisi | 12,1 | 78,65 | 7,1 | 46,15 | 2,1 | 13,65 |
| | TOTAL | | 100 | 650 | 100 | 650 | 100 | 650 |

Uji sifat alir serbuk

Timbang 100 gram serbuk dimasukkan kedalam alat penguji yang berupa corong yang ditutup pada lubang keluarnya. Disaat penutup dibuka, alat pencatat waktu (*stopwatch*) dihidupkan, sampai semua serbuk keluar dari corong. Begitu semua serbuk habis keluar, *stopwatch* dimatikan. Waktu yang diperlukan untuk keluarnya serbuk dicatat sebagai waktu alirnya. Sudut diam dihitung berdasarkan perbandingan antara tinggi kerucut dengan diameter lingkaran yang dibentuk.

Uji Keseragaman bobot

Sebanyak 20 tablet ditimbang satu persatu pada timbangan analitik. Dihitung bobot rata-rata tiap tablet.

Uji Kekerasan tablet

Dilakukan uji kekerasan tablet satu persatu sampai 10 tablet dengan *hardness tester*. Angka yang ditunjukkan pada skala ini menunjukkan kekerasan tablet yang diukur dengan satuan kg.

Uji Kerapuhan tablet

Bersihkan 20 tablet dari debu yang melekat pada tablet, kemudian ditimbang (a gram). Lalu dimasukkan ke dalam alat *friability tester*. Alat diputar selama 4 menit dengan kecepatan 25 rpm (100 putaran). Setelah itu tablet dikeluarkan dari alat,

dibersihkan dari debu, kemudian timbang (b gram).

Uji Waktu hancur tablet

6 tablet dimasukkan ke dalam *desintegration tester*. Kemudian diletakkan di dalam beker berisi 1 liter air pada suhu $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Keranjang pada alat *disintegration tester* akan bergerak turunn naik. Catat waktu yang diperlukan sebagai waktu hancur.

Analisis Data

Dalam penelitian ini data hasil penelitian evaluasi sifat fisik tablet paracetamol dengan metode granulasi basah menggunakan bahan penghancur amilum *Zea mays* (L) dianalisis secara statistic menggunakan kolmogorof smirnov *anova* atau *kruskal wallis* dengan program SPSS dan membandingkan data yang diperoleh dengan literature.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode pembuatan tablet yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode granulasi basah. Hal ini dilakukan karena paracetamol memiliki sifat alir yang tidak baik. Massa granul dimasukkan dalam oven pada suhu 30 - 50° karena paracetamol stabil pada suhu tersebut (Anonim, 2011). Granul diuji sifat alir terlebih dahulu untuk mengetahui pencetakan tablet yang digunakan.

Tabel 2. Hasil uji sifat alir

| Uji laju alir | | | |
|---------------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| Replikasi | Formula 1 (g/s) | Formula 2 (g/s) | Formula 3 (g/s) |
| 1 | 8 | 7 | 14 |
| 2 | 9 | 7 | 14 |
| 3 | 8 | 7 | 16 |
| Rata-rata | 8 | 7 | 14 |
| Kriteria | Mudah mengalir | Mudah mengalir | Sangat mudah mengalir |

Hasil pengujian sifat alir di dapatkan formula 1 memiliki laju alir 8 g/s, dan formula 2 selama 7 g/s, termasuk didalam kategori mudah mengalir dengan persyaratan 4-10 g/s. Formula 3 memiliki

laju alir 14 g/s yang berarti memasuki kategori sangat mudah mengalir yaitu melebihi rentang dari > 10 g/s, (Aulton,1996).

Tabel 3. Hasil evaluasi sifat fisik tablet

| Evaluasi Sifat Fisik | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|----------------------|------------|------------|-----------|
| Keseragaman Bobot | 639,4 mg | 639,4 mg | 639,5 mg |
| Kekerasan | 2,5 kg | 1,9 kg | 1,7 kg |
| Kerapuhan | 1,9% | 4,7% | 21% |
| Waktu Hancur | 1660 detik | 2180 detik | 240detik |

Sifat granul yang mudah mengalir maka granul dapat dicetak menggunakan mesin pencetak tablet (*Rotary single punch*) dan dicetak di uji fisik, uji fisik yang pertama yaitu uji keseragaman bobot. Keseragaman bobot merupakan suatu tolak ukur untuk memastikan bahwa tablet mengandung sejumlah obat yang tepat. Bobot tablet dapat diatur untuk mengontrol kualitas granul dan berkaitan dengan dosis zat aktif. Penyimpangan dari bobot tablet akan mempengaruhi takaran atau dosis dari bahan obat (Lachman *et al*, 1994).

Dari hasil penelitian didapatkan hasil uji keseragaman bobot dengan rata-rata formula 1 adalah 639,4 mg, formula 2 adalah 639,4 mg dan formula 3 adalah 639,75 mg. Dari ketiga formulsi tersebut memenuhi persyaratan keseragaman bobot baik dari kolom A maupun dari kolom B karena tidak ada 2 tablet yang menyimpang dari rentang bobot rata-rata dari kolom A dan tidak ada satupun yang bobot tablet yang menyimpang dari kolom B. Nilai CV dari masing-masing formulasi (F1, F2, F3)

yaitu 2,31%, 1,42%, 1,48% telah memenuhi persyaratan CV karena < 6%.

Uji kekerasan adalah uji yang dilakukan untuk mengetahui seberapa kuat tablet terhadap berbagai guncangan mekanik pada saat pembuatan, pengemasan dan pendistribusian (Ansel, 1989). Dari data yang diperoleh dari pengujian kekerasan ketiga formulasi (F1, F2, F3) adalah 2,5 kg , 1,9 kg , 1,7 kg. Dari hasil yang diperoleh dari ketiga formulasi tidak ada satupun yang memenuhi persyaratan kekerasan yaitu 4-8 kg. Pada umumnya tablet dikatakan baik, apabila mempunyai kekerasan antara 4-8 kg (Parrot, 2008). Dari data SPSS menggunakan *kruskal wallis* didapatkan nilai signifikansi 0,187 ($p > 0,05$) yang berarti tidak ada perbedaan bermakna dari ketiga formulasi. Variasi konsentrasi amilum *Zea mays* (L) tidak mempengaruhi kekerasan tablet.

Uji selanjutnya adalah uji kerapuhan. Uji ini menggambarkan ketahanan tablet melawan tekanan mekanik terutama guncangan dan pengikisan. Kerapuhan yang

tinggi akan mempengaruhi kadar zat aktif yang ada pada tablet (Fudholi dan Hadisoewigny, 2013). Uji kerapuhan dilakukan untuk mengukur ketahanan permukaan tablet terhadap gesekan saat pengemasan dan pendistribusian. Dari data hasil kerapuhan tablet diperoleh hasil % kerapuhan tablet antara tablet paracetamol dari ketiga formulasi yaitu (F1, F2, F3) didapatkan hasil yaitu 2%, 4,7% dan 21,1%. Dari ketiga formulasi tidak ada yang memenuhi persyaratan karena % kerapuhannya diluar rentang 0,5-1% (Lachman *et al*,1994). Semakin tinggi konsentrasi amilum % kerapuhan makin tinggi Hal ini karena kerapuhan dipengaruhi oleh kandungan air dari granul (Lachman *et al*, 1994). Apabila tablet memiliki kekerasan kecil maka akan mudah rapuh. Dari hasil SPSS menggunakan *one way anova* didapatkan hasil signifikansi 0,289 ($p > 0,05$) yang dapat diartikan tidak ada perbedaan dari ketiga formulasi. Variasi konsentrasi amilum *Zea mays* (L) tidak mempengaruhi kerapuhan.

Uji waktu hancur adalah uji yang dilakukan untuk mengetahui berapa lama obat melarut menjadi partikel yang lebih kecil (Ansel, 1989). Uji waktu hancur dilakukan didalam medium dapar fosfat dengan suhu 37 ± 2^0 C, karena disesuaikan dengan suhu tubuh. Pada data yang telah diperoleh didapat hasil waktu hancur formula 1 adalah 660 detik, formula 2 adalah 180 detik, formula 3 adalah 240 detik. Waktu hancur pada formula 1 lebih lama dibandingkan dengan formula 2 dan formula 3 akan tetapi tablet paracetamol masih memenuhi syarat waktu hancur yaitu untuk tablet yang tidak bersalut < 15 menit hal ini dikarenakan amilosa mampu menyerap air sehingga mempengaruhi proses pengembangan amilum. Sehingga, tablet yang kontak dengan cairan saluran pencernaan mengembang dan menyebabkan tablet menjadi pecah dan hancur (Jufri *et al*, 2006). Selain itu penggunaan bahan pengisi

avicel pada kedua formulasi juga berperan dalam meningkatkan waktu hancur karena selain sebagai bahan pengisi avicel juga dapat digunakan sebagai disintegran tablet (Kibbe, 2000).

Dari uji fisik yang dilakukan dapat diketahui bahwa dari ketiga formulasi tablet paracetamol dengan konsentrasi bahan penghancur yang berbeda yaitu 5%, 10% dan 15% tidak memenuhi persyaratan kekerasan dan kerapuhan tablet. Variasi konsentrasi amilum *Zea mays* (L) sebagai bahan penghancur tidak mempengaruhi uji fisik tablet paracetamol.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diperoleh kesimpulan bahwa variasi konsentrasi amilum *Zea mays* (L) sebagai bahan penghancur secara granulasi basah terhadap sifat fisik tablet paracetamol tidak berpengaruh terhadap keseragaman bobot, kekerasan tablet, kerapuhan tablet, dan waktu hancur tablet.

SARAN

1. Diperlukan adanya penelitian lanjutan tentang pengaruh variasi bahan penghancur dengan metode pencetakan yang berbeda.
2. Diperlukan adanya penelitian lanjutan perbandingan potensi amilum *Zea mays* (L) dan amilum yang lain.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Akademi Farmasi Jember dan berbagai pihak yang telah banyak membantu hingga selesainya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. (2011). *AHFS Drug Information*. Bethesda: American Society of Health System Pharmacists.

- Ansel, H.C. (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi 4*. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Aulton, ME. (1996). *Pharmaceutics The Science Of Dosage Form Design*. London Churchill Livingstone.
- Ben, E.S., Zulianis dan A. Halim. (2007) *Studi Awal Pemisahan Amilosa dan Amilopektin Pati Singkong dengan Fraksi Butanol-Air. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol.12, No.1*
- Fudholi, A dan Hadisoewignyo, L., (2013). *Sediaan Solida*, Yogyakarta, Pustaka Pelajar.
- Gunsel WC, Swartz, Kanig, (1970). Tablets. In : Lachman L, Lieberman HA and Kanig JL, ed. *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*. Philadelphia :Lea and Febiger, 1970'.
- Jufri, Iskandarsyah, Animar J.A., dan Jenny. (2006). *Pengaruh Kandungan Pati Singkong Terpregelatinasi Terhadap Karakteristik Fisik Tablet Lepas Terkontrol Teofilin*. Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol.1.
- Kibbie, A.H., Wade, A., weller, P.J. (2000). *Handbook Of Pharmaceutical Excipients*. Edisi III. Amer Pharmaceutical Assn: USA.
- Lachman, L., Lieberman, H., Kanig, J.L. (1994). *Teori dan Praktik Farmasi Industri*. Edisi III. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Mycek.,(2001), *Farmakologi, Edisi 2, Alih bahasa Azwar Agus*, Widya Medika.
- Parrot, E (2008). *Pharmaceutical Technology Fundamental Pharmaceutics*. Burgess Publishing Company. United States of America.
- Reiza Z, (2010). *Perbandingan Penggunaan Metode Granulasi Basah Dan Granulasi Kering Terhadap Stabilitas Zat Aktif Tablet Parasetamol*. skripsi Universitas Muhammadiyah, Surakarta.

PENENTUAN KADAR POLIFENOL EKSTRAK TEH KEMASAN DENGAN METODE REMASERASI MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Hadi Barru Hakam Fajar Siddiq^{*}, Jati Riyuwani, Rizka Della Yunita Dewi
Akademi Farmasi Jember
Jl. Pangandaran No. 42 Jember 58125
email: hakamfajar@gmail.com

ABSTRACT

The purpose of this research is determine the polyphenol content of various brand of packaged tea. Sample were used five sample. Polyphenol compounds of packaged tea were extracted using remaseration method with ethanol 70%. Qualitative test were used using FeCl₃ reagent and quantitative test polyphenol content were determined using UV-Vis spectrophotometry method with Folin Ciocalteau reagent. Galic acid was used as comparator in this research. The result of qualitative test is all sample of brewed tea containing polyphenol. Polyphenol content sample A, B, C, D, and E with remaseration method were respectively 0,541; 0,557; 0,474; 0,557; and 0,428%(b/b).

Keyword: *packaged tea, polyphenol, remaseration, UV-Vis spectrophotometry*

PENDAHULUAN

Teh merupakan minuman yang dapat diterima oleh seluruh lapisan masyarakat. Seiring dengan perkembangan perekonomian, kemajuan pendidikan masyarakat, arus informasi yang semakin baik, dan perubahan gaya hidup membuat pola konsumsi masyarakat berubah. Termasuk konsumsi masyarakat terhadap minuman teh. Bila dibandingkan dengan jenis minuman lain, teh ternyata lebih banyak manfaatnya. Manfaat yang dihasilkan dari minuman teh adalah memberikan rasa segar, dapat memulihkan kesehatan badan dan terbukti tidak menimbulkan dampak negatif. Senyawa yang banyak terkandung didalam teh salah satunya adalah polifenol menurut jenisnya polifenol terdiri dari tanin, lignin, melanin. Polifenol dapat digunakan sebagai antioksidan (Gramza dkk., 2005). Senyawa antioksidan banyak ditemukan dalam tanaman obat. Polifenol berfungsi mencegah radikal bebas, merusak DNA dan menghentikan perkembangan sel-sel yang akan berkembang menjadi sel kanker dan

dapat meningkatkan sistem imun (Dewi, 2008). Selain itu teh juga mengandung alkaloid golongan purin seperti kafein, theofilin dan theobromin. Teh juga mengandung tanin, asam fenolat, dan katekin (Soraya dan Noni, 2007).

Komposisi kimia yang terdapat pada daun teh segar (dalam % berat kering) kurang lebih adalah Serat kasar selulosa, lignin (22%), protein dan asam amino (23%), lemak (8%), polifenol (30%), kafein (4%), peptin (4%), dan tanin (7-15%) (Arfiansyah, 2009). Penelitian yang dilakukan Sulistyowati dkk (2010) karbohidrat (glukosa) yang terkandung dalam teh yang ada dipasaran adalah (8,8 mg/g). Sedangkan penelitian yang dilakukan Nazaruddin dan paimin (1993) polifenol yang terkandung dalam teh hitam adalah antara (23-33%) untuk teh hijau sebanyak (20-35%) dan teh oolong (tidak kurang dari 21% dan tidak lebih dari 34%).

Dengan adanya berbagai produk pangan fungsional yang bermanfaat bagi kesehatan mulai banyak diminati oleh konsumen karena kesadaran akan pentingnya hidup

sehat semakin meningkat. Salah satu jenis pangan kesehatan yang banyak dikembangkan dan diteliti adalah pangan kesehatan yang mengandung antioksidan. Mengingat peranannya yang mampu mencegah timbulnya berbagai jenis penyakit kronis maka perhatian banyak ditujukan pada upaya pencarian zat-zat antioksidan yang potensial terutama yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Oleh karena itu, penelitian untuk menganalisis kandungan polifenol dalam teh perlu dilakukan pada produk-produk yang beredar di pasaran.

Salah satu metode ekstraksi polifenol dari produk teh kemasan yang beredar di pasaran adalah metode remaserasi. Metode ini dipilih karena alat dan cara yang digunakan sederhana. Selain itu metode remaserasi dapat digunakan untuk zat yang tahan dan tidak tahan pemanasan. Berdasarkan penjelasan-penjelasan diatas, dalam penelitian ini dilakukan analisis polifenol teh tubruk kemasan dengan metode remaserasi. Analisis nantinya dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis secara kuantitatif.

METODOLOGI PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan metode teknik *simple random sampling* Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah teh kemasan jenis teh tubruk sebanyak 3 sampel dan 2 sampel teh celup. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui kadar polifenol pada teh kemasan untuk diuji kadarnya.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan adalah gelas kimia, pipet volume, erlenmeyer, gelas ukur, corong pisah, statif dan klem, neraca analitik, *rotary evaporator*, kuvet, dan spektrofotometer sinar tampak (*visible*).

Bahan yang digunakan adalah teh kemasan, asam galat, besi (III) klorida 3%,

pelarut folin ciocalteu, sodium karbonat, etanol 70%, kertas saring, dan akuades.

Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium kimia Akademi Farmasi Jember dan laboratorium kimia fakultas farmasi Universitas Jember.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi teh Kemasan

Tahapan metode remaserasi yaitu 10 gram teh direndam dengan 50 ml etanol 70% selama satu malam. Selanjutnya campuran di saring, dan residu di tambahkan dengan 50 ml etanol lagi selama semalam. Perlakuan tersebut dilakukan berulang sebanyak 6 kali penambahan etanol, sehingga jumlah etanol total sebesar 300 ml. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diuapkan pada suhu 60 °C. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan disimpan di dalam desikator sebelum digunakan untuk uji selanjutnya.

Pembuatan Larutan Standar

Larutan standar asam galat yang digunakan adalah asam galat 100 ppm sebagai larutan induk. Selanjutnya larutan dibuat berbagai variasi konsentrasi 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; dan 15 ppm. Larutan tersebut digunakan sebagai larutan baku untuk pembuatan kurva standar pada pengukuran dengan spektrofotometer sinar tampak (*visible*).

Uji Kualitatif Polifenol

Uji kualitatif polifenol ekstrak teh dilakukan dengan reagen FeCl_3 3%. Sebanyak 0,1 mg masing-masing ekstrak sampel dilarutkan dengan 10 mL aquades. Selanjutnya masing-masing ditambahkan larutan FeCl_3 sebanyak 3 tetes (Samin, 2013). Sebagai pembanding digunakan larutan asam galat 5 ppm sebanyak 10 mL.

Uji Kuantitatif Polifenol

Uji kuantitatif polifenol diawali dengan penentuan panjang gelombang optimum, yaitu sebanyak 0,1 mL larutan asam galat 10 ppm (akuades sebagai blanko) dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan 0,1 mL pelarut folin-ciocalteu 10% dan 0,8 mL larutan Na_2CO_3 7,5% kemudian dicampur merata dan didiamkan pada selama 30 menit. Selanjutnya larutan diukur absorbansinya pada alat spektrofotometer UV-Vis pada daerah panjang gelombang 400-800 nm. Panjang gelombang optimum didapatkan dari nilai absorbansi tertinggi. Tahap selanjutnya adalah pengukuran absorbansi larutan standar asam galat berbagai variasi konsentrasi pada panjang gelombang optimum. Setelah didapatkan nilai absorbansi dari pengukuran larutan standar, kemudian data absorbansi diolah ke dalam *software Microsoft excel* untuk dibuat kurva kalibrasi. Tahap terakhir adalah pengukuran absorbansi ekstrak sampel teh kemasan pada panjang gelombang optimum. Kandungan polifenol sampel dihitung berdasarkan nilai absorbansi sampel dimasukkan ke dalam persamaan regresi larutan standar asam galat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi Polifenol Teh Kemasan

Pada penelitian ini proses ekstraksi polifenol teh kemasan menggunakan metode remaserasi. Metode remaserasi merupakan metode maserasi yang dilakukan berulang. Maserasi merupakan pengestraksian serbuk atau simpilisia dengan cara merendam dalam cairan penyari dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada

dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama pemilihan rendaman yang digunakan (Voigt, 1994).

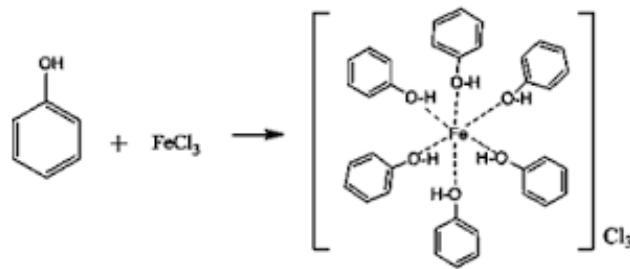
Dalam penelitian ini simpilisia direndam pada 50 ml pelarut selama 6 x 24 jam dan setiap 1 x 24 jam dilakukan penggantian pelarut. Penggantian setiap 1 x 24 jam karena pelarut yang telah jenuh tidak akan menarik komponen fitokimia atau zat kimia yang ada dalam simpilisia. Hal ini dilakukan untuk meminimalkan senyawa polifenol yang ada pada simpilisia terambil semua. Setelah didapatkan ekstrak dilakukan uji kualitatif dan uji kuantitatif. Hasil Ekstraksi polifenol sampel teh ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1 Hasil ekstraksi sampel teh kemasan dengan metode remaserasi

Analisis Kualitatif Polifenol

Uji kualitatif polifenol bertujuan untuk mengetahui dan memastikan adanya senyawa polifenol didalam sampel yang dianalisis. Reagen yang digunakan adalah FeCl_3 , karena senyawa polifenol dapat bereaksi dengan FeCl_3 menjadi warna biru kehitaman (Samin, 2013). Hal ini disebabkan karena adanya pembentukan senyawa kompleks antara gugus fenol dengan Fe^{3+} yang terdapat pada pereaksi FeCl_3 . Reaksi tersebut dianalogkan dengan reaksi antara gugus fenol karena Fe merupakan senyawa logam (Wagner, 1996).

Gambar 2 Reaksi Fenol dengan FeCl_3 (Wagner, 1996)

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak sampel teh A, B, C, D, dan E dengan metode remaserasi seluruhnya mengandung polifenol sesuai pada tabel 1. Setelah diketahui bahwa ekstrak teh kemasan mengandung polifenol, maka analisis dilanjutkan dengan analisis kuantitatif menggunakan spektrofometri UV-Vis.

Tabel 1. Uji kualitatif polifenol menggunakan FeCl_3

| Uraian | Hasil | | | Kesimpulan |
|--------------------|----------------|----------------|----------------|---------------|
| | Replikasi 1 | Replikasi 2 | Replikasi 3 | |
| Standar Asam galat | Biru kehitaman | Biru kehitaman | Biru kehitaman | + (Positif) |
| Sampel A | Biru kehitaman | Biru kehitaman | Biru kehitaman | + (Positif) |
| Sampel B | Biru kehitaman | Biru kehitaman | Biru kehitaman | + (Positif) |
| Sampel C | Biru kehitaman | Biru kehitaman | Biru kehitaman | + (Positif) |
| Sampel D | Biru kehitaman | Biru kehitaman | Biru kehitaman | + (Positif) |
| Sampel E | Biru kehitaman | Biru kehitaman | Biru kehitaman | + (Positif) |

Analisis Kuantitatif Polifenol

Analisis kuantitatif polifenol diawali dengan reaksi antara sampel dan larutan standar dengan reagen *folin ciocalteau* (1:10) dan Na_2CO_3 7,5%. Reagen *folin ciocalteau* digunakan karena dapat bereaksi dengan senyawa fenolik dan membentuk warna yang dapat diukur absorbansinya (Kao, 2016). Pereaksi *folin ciocalteau* akan mengoksidasi senyawa fenolat (garam alkali). Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen *folin ciocalteau* hanya dalam suasana basa agar terjadi pemisahan proton, dari senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Untuk membuat kondisi basa digunakan Na_2CO_3 7,5%. Gugus hidrosil pada senyawa fenolik

bereaksi dengan reagen *folin ciocalteau* membentuk warna biru yang dapat dideteksi dengan Spektrofotometer. Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) sehingga warna biru yang dihasilkan akan semakin pekat (Susanti dkk., 2012).

Pengukuran absorbansi larutan standar dan sampel menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis dilakukan pada panjang gelombang optimum yaitu 626 nm, seperti terlihat pada gambar 2. Panjang gelombang ini didapatkan dari hasil *scanning* panjang gelombang 400-800 nm

untuk mengetahui besarnya panjang gelombang yang digunakan larutan asam galat standar untuk mencapai hasil yang paling baik. Pemilihan panjang gelombang yang tepat akan meningkatkan kualitas hasil analisis, selama tidak dipengaruhi oleh komponen pengganggu selama proses analisis. Pengukuran panjang gelombang optimum dilihat dari absorbansi yang tertinggi (Andriyani, 2010).



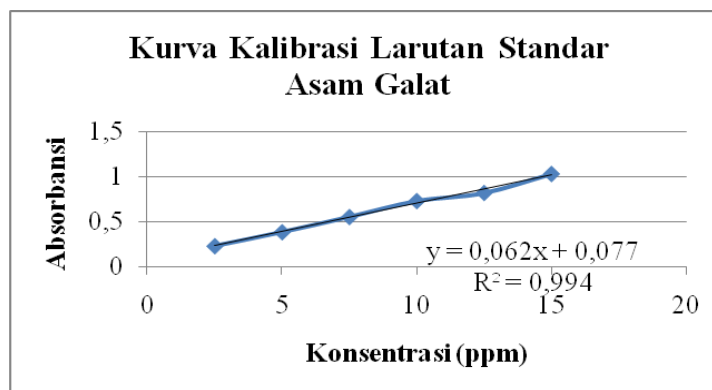
Gambar 2. Scanning Panjang Gelombang Optimum

Panjang gelombang optimum yang diperoleh berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya setelah dilakukan panjang gelombang optimum yaitu 628 nm (wolfe *et al.*, 2003). Perbedaan tersebut dapat dikarenakan kondisi alat dan kemurnian asam galat yang berbeda. Setelah panjang

gelombang optimum didapatkan dilanjutkan dengan pengukuran absorbansi standar asam galat seperti tabel 2 dengan pengolahan data konsentrasi dan absorbansi larutan standar asam galat dapat dibuat kurva kalibrasi berdasarkan gambar 3.

Tabel 2 Konsentrasi dan absorbansi asam galat standar pada panjang gelombang 626 nm

| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi |
|-------------------|------------|
| 2,5 | 0,231 |
| 5,0 | 0,386 |
| 7,5 | 0,555 |
| 10 | 0,732 |
| 12,5 | 0,822 |
| 15 | 1,033 |



Gambar 3. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Asam Galat

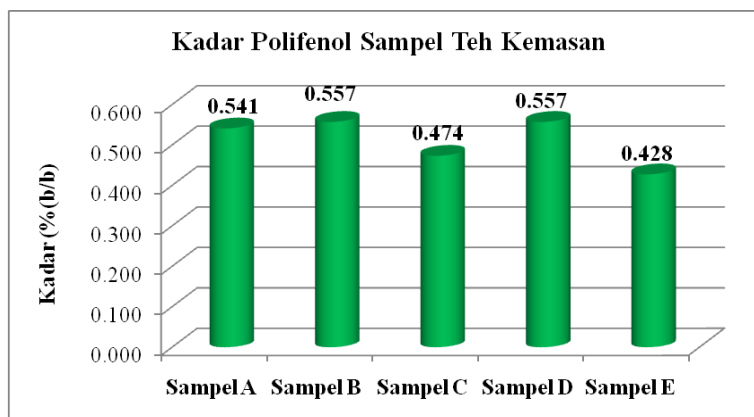
Dalam penelitian yang telah dilakukan didapat kurva standar $y = 0,062x + 0,077$ $R^2 = 0,994$. Nilai R^2 menunjukkan koefisien korelasi yang baik, karena mendekati 1. Jika nilai R^2 sebesar 1 akan mempunyai arti kesesuaian yang sempurna, sebaliknya jika R^2 sama dengan 0 maka tidak ada hubungan linear antara X dan Y (Gujarati, 2006). Hal ini dapat digunakan dalam perhitungan konsentrasi sampel untuk mendapatkan kadar polifenol dalam sampel.

Penentuan konsentrasi polifenol dilakukan dengan memasukkan nilai

absorbansi sampel ke dalam persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi larutan standar, sedangkan perhitungan kadar dilakukan dengan mengubah nilai konsentrasi polifenol dalam sampel (ppm) menjadi berat polifenol dalam sampel, selanjutnya dibagi dengan nilai berat ekstrak. Hasil perhitungan konsentrasi dan kadar polifenol dalam sampel ditunjukkan pada tabel 3 dan gambar 4.

Tabel 3 Penentuan konsentrasi polifenol dengan metode remaserasi

| Sampel | Absorbansi | Konsentrasi (ppm) |
|--------|------------|---------------------|
| A | 0,916 | 13,532 |
| B | 0,941 | 13,935 |
| C | 0,811 | 11,839 |
| D | 0,941 | 13,935 |
| E | 0,740 | 10,694 |



Gambar 4. Kadar Polifenol Sampel Teh Kemasan dengan Metode Remaserasi

Berdasarkan hasil diatas dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan kadar polifenol dalam teh kemasan. Perbedaan tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan komposisi yang ada pada kemasan, cara pembuatan, dan lama pengeringan daun teh pada masing-masing kemasan, sehingga menyebabkan perbedaan kadar polifenol.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Semua sampel teh kemasan yang beredar di pasaran mengandung polifenol
2. Kadar polifenol sampel teh A, B, C, D, dan E menggunakan metode remaserasi berturut-turut sebesar 0,541; 0,557; 0,474; 0,557; dan 0,428%(b/b).

SARAN

1. Perlu dilakukan analisis lanjutan untuk mengetahui jenis polifenol

yang terkandung dalam teh kemasan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Akademi Farmasi Jember dan berbagai pihak yang telah banyak membantu hingga selesainya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriyani D., Utami P.I., Dhani B.A., 2010. Penetapan Kadar Tanin Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L) Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Journal Pharmacy*. Vol. 7: 1-11.
- Dewi. 2008. Pengaruh Pemberian Polifenol Teh Hijau terhadap Sebaran Sel Mononuklear Adenokarsinoma. Mammae Mencit₃H. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
- Gramza A.M., Stachowiak B., 2005. *The Antioxidant Potential of Carotenoid Extract from Phaffia rhodozyma, Acta Scientiarum Polonorum* .Vol. 2, :171-188.
- Gujarati D., Sumarno Z., 2006. *Ekonomitrika dasar*. Jakarta. Erlangga.
- Kao, A., 2006. Ethics, law and professionalism: What physicians need to know. In Stern, D.T. ed. Measuring medical professionalism. Oxford :Oxford University Press, pp.
- Nazarudin., Paimin F.B., (1993). *Pembudidayaan dan Pengolahan Teh*. Penebar Sawsadaya. Jakarta.
- Samin A., Bialagi N., Yuzda K., 2013. Penentuan Kandungan Fenolik Total Dan Aktivitas Antioksidan Dari Rambut Jagung (*Zea May L.*) Yang Tumbuh Di Daerah Gorontalo. *Laporan Penelitian*. Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Matematika dan IPA Universitas Negeri Gorontalo.
- Soraya., Noni, 2007. *Sehat dan cantik berkat teh hijau*. Jakarta. Penebar Swadaya
- Sulistiyowati., Eddy., Salirawati., Antumi Wiyarsi., (2010). Penentuan Kadar Berbagai Zat Gizi Pada Teh Bunga Sepatu. *Laporan Penelitian*. UNY.
- Susanti., Alfian. R., 2012. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Dengan Variasi Tempat tumbuh Secara Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* Vol. 2, No. 1: 73-80.
- Voigt. (1994). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. (diterjemahkan oleh Noerono). Edisi V. Gajah mada University Press. Yogyakarta.
- Wagner H., 1996. *Plant rug Analysis. A Thin layer Chromatography Atlas Second Edition*. Berlin. Springer-Verlag.
- Wolfe, K., Wu, X., and Liu, R.H., 2003. Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 51: 609-614.

“Halaman Sengaja dikosongkan”

TINGKAT KEPUASAN APOTEK DI WILAYAH LUMAJANG TERHADAP DISTRIBUSI OBAT OLEH PEDAGANG BESAR FARMASI

Kukuh Judy Handoyo^{1*}, Pradana Satria Rakhmanta¹, Diyan Ajeng R¹
¹Akademi Farmasi Jember, Jember, Indonesia
 Jl. Pangandaran no 42 Jember Indonesia
 *E-mail : kukuh.handojo@gmail.com

ABSTRACT

PBF services in Lumajang region need to improve the quality of service, including delivery time often exceeds the time that had been promised, complaints regarding medication errors and difficulty getting accountability, the price has changed in a short time, and the service was not constant. The purpose of this study was to determine the level of drug store Lumajang region against drug distribution by PBF in tangible dimension (direct evidence), reliability (reliability), responsiveness (responsiveness), assurance (assurance), empathy (caring). Samples were selected in this research is all drug store in Lumajang totaling 30 pharmacies. The research design in this study is descriptive by using survey method. Based on the data collection process, there were only 30 drug store that are willing to be respondents has qualified for data processing and it can be concluded that the level of satisfaction Pharmacy Lumajang region on tangible dimension (direct evidence) of 86.24%, expressed satisfaction, reliability dimension (reliability) by 80%, otherwise satisfactory, dimensions responsiveness (responsiveness) of 75.84%, expressed quite satisfactory, dimensions assurance (guarantee) amounting to 86.11%, declared satisfactory, the dimensions of empathy (caring) amounted to 86.94%, otherwise satisfactory. Based on the above data, it needs to be evaluated in five dimensions, from the evaluation it would appear that satisfaction level of drug store in Lumajang to PBF service (drug distribution) reach 83,02% and including the satisfactory category .

Keywords: *Level of satisfaction - Drugs distribution – PBF*

PENDAHULUAN

Pedoman *Good Distribution Practices for Pharmaceutical Products* diterbitkan oleh WHO pada tahun 2005 mengharuskan suatu jaringan distribusi menyelenggara kan suatu sistem jaminan kualitas terhadap produk farmasi yang didistribusikan sehingga produknya akan terjamin mutu, khasiat, keamanan dan keabsahannya sampai ke tangan konsumen. Industri farmasi atau lebih dikenal sebagai Pedagang Besar Farmasi (PBF) harus memenuhi kebutuhan konsumen dengan cepat dan tepat, karena kecepatan dan ketepatan perbekalan farmasi merupakan faktor yang berpengaruh untuk menjamin kepuasan konsumen (Baharuddin dan Wahyuni, 2010).

Dalam persaingan yang semakin tajam antara Pedagang Besar Farmasi saat ini,

maka kepuasan pelanggan menjadi prioritas utama dimana tingkat kepentingan dan harapan pelanggan serta pelaksanaan atau kinerja yang dilakukan perusahaan haruslah sesuai perusahaan harus memperhatikan hal – hal yang dianggap penting oleh para pelanggan, agar mereka puas (Yusnita, 2011). kepuasan adalah tingkat perasaan seseorang setelah membandingkan kinerja (atau hasil) yang dirasakan dibandingkan dengan harapan (Kotler, 1995).

Apotek di wilayah Lumajang rata-rata masih sering mengeluhkan mengenai kualitas distribusi obat oleh pedagang besar farmasi. Dimana waktu pengiriman sering melebihi dari waktu yang telah di janjikan. Selain itu, keluhan juga datang dari segi kesalahan obat datang yang tidak sesuai dengan surat pesanan dan harga yang

berubah dalam waktu yang terlalu singkat sehingga bukan hanya apotik yang dirugikan namun konsumen juga merasa kurang mendapatkan pelayanan yang baik karena kejadian tersebut. Oleh karena itu, perlu dilakukan perbaikan layanan oleh PBF agar tingkat kepuasan apotik akan meningkat. Tujuan penelitian ini adalah ingin mengetahui tingkat kepuasan apotik terhadap layanan distribusi obat oleh PBF berdasarkan dimensi kepuasan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif *cross sectional* dengan metode survey pada tenaga teknis kefarmasian di 30 apotik wilayah Lumajang yang menangani bagian pengadaan perbekalan farmasi. Waktu pengambilan data dilakukan pada bulan Juli 2016. Waktu penelitian sejak didapatkan ijin penelitian dari IAI cabang Lumajang.

Populasi, Sampel dan Teknik sampling

Populasi penelitian ini adalah seluruh apotik yang beroperasi di wilayah Lumajang dan mau menjadi responden. Teknik sampling menggunakan total sampling yang menjadikan populasi semua sampel yaitu sebanyak 30 apotik. Responden diwawancarai dan diberi kuesioner terkait dimensi kepuasan dalam distribusi obat oleh PBF.

Sumber Data

Sumber data penelitian ini diperoleh dari hasil kuesioner yang disebarkan pada tenaga teknis kefarmasian bagian perbekalan farmasi di apotik.

Variabel

Variabel dalam penelitian ini adalah distribusi obat dan tingkat kepuasan meliputi lima dimensi yaitu *tangible* (bukti langsung), *reliability* (kehandalan), *responsiveness* (kehandalan), *Assurance* (jaminan), *Emphaty* (kepedulian)

Instrumen

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah kuesioner, lembar pengumpulan data berisi rekap data dari sumber data dan hasil kuesioner. Uji validitas dan reliabilitas dilakukan untuk menguji instrumen penelitian yaitu kuesioner, interviewer, pedoman *interview* dan lembar pengumpul data. Pengujian validitas dan reliabilitas kuesioner dilakukan dengan cara membagikan kuesioner pada apotik di Jember sebanyak 30 unit yang dilakukan sebelum bulan Juli 2016. Validitas dan reliabilitas diuji menggunakan Cronbach's Alpha. Nilai validitas dapat dilihat pada *Corrected Item-Total Correlation*. Nilai reliabilitas dapat dilihat pada Cronbach's Alpha. Pengujian validitas rupa dan validitas isi pada lembar pengumpul data dengan pengaturan tampilan instrumen dan penggunaan bahasa agar mudah diisi oleh peneliti.

Analisis Data

Data yang telah terkumpul dilakukan pemberian skor atau nilai kemudian di prosentasekan menggunakan rumus

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

n : skor rata-rata

P : Prosentase

N : Skor maksimal

Untuk menentukan kriteria kualitas (Arikunto, 2006)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel berjumlah 30 apotik dan bersedia menjadi responden. Data hasil kuesioner terhadap kepuasan pelayanan PBF berdasarkan kelima dimensi kepuasan sebagai berikut:

Tabel 5.1 Persentase berdasarkan dimensi *Tangible* (Sarana fisik)

| No Kategori | Frekuensi (Responden) | Persentase |
|---------------|-----------------------|------------|
| 1 Puas | 22 | 73,33% |
| 2 Cukup puas | 8 | 26,67% |
| 3 Kurang puas | 0 | 0% |
| 4 Tidak puas | 0 | 0% |
| Jumlah | 30 | 100 % |

Pada penelitian ini 30 responden yang telah menjawab 2 pertanyaan tentang dimensi sarana fisik, diperoleh 22 responden yang menyatakan puas dengan persentase 73,33%, 8 responden yang menyatakan cukup puas dengan persentase 26,67%, serta tidak ada responden yang menjawab kurang puas dan tidak puas.

Tabel 5.2 Persentase berdasarkan dimensi *Reliability* (Kehandalan)

| No Kategori | Frekuensi (Responden) | Persentase |
|---------------|-----------------------|------------|
| 1 Puas | 14 | 46,67% |
| 2 Cukup puas | 15 | 50% |
| 3 Kurang puas | 1 | 3,33% |
| 4 Tidak puas | 0 | 0% |
| Jumlah | 30 | 100 % |

Kemudian pada dimensi kehandalan terdapat 14 responden yang menyatakan puas dengan persentase 46,67%, 15 responden yang menyatakan cukup puas dengan persentase 50%, 1 responden yang menyatakan kurang puas dengan persentase 3,33%, dan tidak ada responden yang menyatakan tidak puas.

Tabel 5.3 Persentase berdasarkan dimensi *Responsiviness* (Ketanggapan)

| No Kategori | Frekuensi (Responden) | Persentase |
|---------------|-----------------------|------------|
| 1 Puas | 8 | 26,67% |
| 2 Cukup puas | 21 | 70% |
| 3 Kurang puas | 1 | 3,33% |
| 4 Tidak puas | 0 | 0% |
| Jumlah | 30 | 100 % |

Pada dimensi ketanggapan dari 30 responden yang menjawab terdapat 8 responden yang menyatakan puas dengan persentase sebesar 26,67%, 21 responden yang menyatakan cukup puas dengan persentase sebesar 70%, 1 responden yang menyatakan kurang puas dengan persentase 3,33%, dan tidak ada responden yang menyatakan tidak puas.

Tabel 5.4 Persentase berdasarkan dimensi *Assurance* (Jaminan)

| No Kategori | Frekuensi (Responden) | Persentase |
|---------------|-----------------------|------------|
| 1 Puas | 19 | 63,33% |
| 2 Cukup puas | 11 | 36,67% |
| 3 Kurang puas | 0 | 0 % |
| 4 Tidak puas | 0 | 0% |
| Jumlah | 30 | 100 % |

Sedangkan pada dimensi jaminan 19 responden yang menyatakan puas dengan persentase 63,33%, 11 responden menyatakan cukup puas dengan persentase 36,67% dan tidak ada responden yang menyatakan kurang puas ataupun tidak puas.

Tabel 5.5 Persentase berdasarkan dimensi *Emphaty* (Kepedulian)

| No | Kategori | Frekuensi (Responden) | Persentase |
|--------|-------------|-----------------------|------------|
| 1 | Puas | 20 | 66,67% |
| 2 | Cukup puas | 10 | 33,33% |
| 3 | Kurang puas | 0 | 0 % |
| 4 | Tidak puas | 0 | 0% |
| Jumlah | | 30 | 100 % |

Untuk dimensi terakhir yaitu kepedulian terdapat 20 responden yang menyatakan puas dengan persentase 28 66,67%, 10 responden yang menyatakan cukup puas dengan persentase sebesar 33,33%, dan tidak ada responden yang menyatakan kurang puas ataupun tidak puas.

Keterbatasan Penelitian

Pada penelitian ini terdapat beberapa keterbatasan penelitian yaitu tidak semua variabel yang berpengaruh terhadap kepuasan diteliti.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian lima dimensi kepuasan terhadap distribusi obat oleh PBF maka diperoleh hasil empat kategori yaitu bukti langsung memperoleh prosentase 86,25%, kehandalan memperoleh prosentase 80%, jaminan memperoleh prosentase 86,06%, dan kepedulian memperoleh prosentase 87,25% sehingga responden memberikan penilaian bahwa distribusi obat oleh PBF sudah memuaskan, sedangkan untuk dimensi ketanggapan

memperoleh prosentase 75,75% memberikan penilaian cukup memuaskan.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini maka PBF perlu meningkatkan pelayanannya lebih baik dengan menggunakan teknologi informasi yang akan memberikan informasi lebih akurat mengenai perbekalan farmasi yang dibutuhkan serta penanganan keluhan lebih cepat direspon oleh pihak PBF.

DAFTAR PUSTAKA

- Arikunto, Suharsimi. (2006). *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktek*, Jakarta:Penerbit : Rineka Cipta.
- Baharuddin dan Wahyuni, 2010 *Teori Belajar dan Pembelajaran*. Yogyakarta:Ar-ruzz Media
- Kotler, P. (1995). *Manajemen Pemasaran Analysis Perencanaan dan Implementasi*, Salemba Empat, Jakarta
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1010 / Menkes / Per / XI /2008 Tentang Registrasi Obat.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1148 / Menkes / Per / VI /2011 Tentang Pedagang Besar Farmasi.
- Yusnita, E. (2011). *Kepuasan Pasien Terhadap Pelayanan Obat di Apotek Sejahtera*, Jember

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI SELULOLITIK ASAL JERAMI PADI DI PERSAWAHAN BOGOR BARAT

Siti Nur Azizah

Akademi Farmasi Jember

Jl. Pangandaran No.42 Jember 68125

Email: azizah.ariza@gmail.com

ABSTRAK

Kandungan selulosa pada jerami padi tergolong tinggi yaitu sekitar 35%. Sebagai senyawa yang paling melimpah di dunia, selulosa dari jerami padi dapat digunakan sebagai sumber penghasil bakteri selulolitik yang dapat menghasilkan enzim selulase sebagai katalis yang bermanfaat dalam bidang industri, pertanian dan kesehatan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri selulolitik asal jerami padi di Desa Kampung Jawa Kelurahan Setigede Kecamatan Bogor Barat dengan cara isolasi dan karakterisasi isolat yang didapat pada medium CMC agar. Hasil isolasi pada media CMC agar diperoleh sebanyak 5 isolat bakteri selulolitik yaitu isolat J1, J2, J3, J4 dan J5. Hasil skrining aktivitas selulolitik secara semikuantitatif menggunakan metode congo red menunjukkan bahwa isolat J2 memiliki nilai IAE tertinggi yaitu 1,84. Hasil karakterisasi secara fisik yaitu makroskopis dan mikroskopis serta karakterisasi secara biokimia sesuai petunjuk *Bergey's Manual of systematic bacteriology* menunjukkan bahwa isolat J2 memiliki kemiripan dengan *Bacillus* sp.

Kata kunci: Bakteri selulolitik, jerami padi, karakterisasi bakteri

PENDAHULUAN

Bakteri selulolitik merupakan bakteri yang mampu menghasilkan selulase yang menghidrolisis selulosa menjadi produk yang lebih sederhana yaitu glukosa. Beberapa genus bakteri yang memiliki kemampuan selulolitik adalah *Achromobacter*, *Angiococcus*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Cytophaga*, *Clostridium*, *Cellivibrio*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Poliangium*, *Sorangium*, *Sporocytophaga*, *Vibrio*, *Cellfalcicula* (Rao 1994), *Citrobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, dan *Aeromonas* (Anand *et al.* 2009). Bakteri selulolitik dijumpai pada habitat yang kaya akan selulosa, salah satunya adalah jerami padi.

Jerami padi merupakan sumber bahan organik yang mudah didapat dan memiliki kandungan selulosa tinggi mencapai 35% (Wati *et al.* 2007). Selulosa ini merupakan senyawa paling melimpah di dunia sebagai sumber daya alam terbarukan sehingga dapat dijadikan bahan baku potensial sebagai makanan, bahan bakar, senyawa kimia dan

tambahan obat-obatan. Selama ini jerami padi dianggap tidak memiliki nilai ekonomi, bahkan cenderung dianggap limbah yang menyebabkan lingkungan bau dan tidak sehat. Pada umumnya jerami hanya dibakar atau ditinggal di lahan persawahan. Disisi lain pengolahan dengan cara membakar jerami dapat meningkatkan konsentrasi gas rumah kaca (Litbang Deptan 2008). Bakteri selulolitik yang memiliki aktivitas selulolitik tinggi dapat diisolasi dari jerami padi yang memiliki kadar selulosa tinggi. Hal ini diduga karena bakteri *indigenous* lebih mudah untuk beradaptasi dengan lingkungan yang sama. Oleh karena itu perlu dilakukan isolasi bakteri selulolitik dari jerami padi yang berpotensi tinggi dalam proses dekomposisi jerami padi.

Berdasarkan latar belakang tersebut tujuan praktikum ini adalah untuk mengisolasi bakteri, melakukan karakterisasi morfologi dan fisiologi serta untuk mengukur aktivitas enzim selulolitik bakteri.

METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel

Sampel jerami padi yang telah membusuk diambil dari sawah di Desa Kampung Jawa Kelurahan Setigede Kecamatan Bogor Barat. Pada saat pengambilan sampel juga dilakukan pengukuran suhu dan pH sampel.

Isolasi dan Pemurnian Bakteri

Sebanyak 1gr sampel jerami dilarutkan dalam 9 mL larutan gasfis (NaCl 0,85%) lalu divortex sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} . Pengenceran dilakukan hingga 10^{-6} . Pada pengenceran 10^{-5} dan 10^{-6} diambil 0,1 mL dan diinokulasikan secara *spread plate* pada media *Carboximethyl cellulase* (CMC). Komposisi media CMC per 100 mL mengandung 0,02 gr $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,075 gr KNO_3 ; 1 gr CMC; 0,05 gr K_2HPO_4 ; 0,002 gr $FeSO_4$; 0,004 gr $CaCl_2$; 0,2 gr ekstrak yeast; 1,8 gr agar; 0,1 gr glukosa. Kemudian diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam.

Pemurnian bakteri dilakukan dengan mengambil koloni yang tumbuh terpisah dan menunjukkan karakter morfologi yang berbeda. Isolat tersebut diinokulasikan pada media CMC baru dengan metode *streak* kuadran. Lalu inkubasi dilakukan pada suhu 37 °C selama 48 jam. Amati adanya koloni tunggal yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut murni.

Aktivitas Selulolitik Secara Semikuantitatif

Pengujian aktivitas selulolitik dilakukan dengan metode *Congo Red*. Larutan *Congo Red* (0,1% w/v) dituang pada kultur dan dibiarkan selama 15 menit. Larutan kemudian dibuang dan dibilas dengan NaCl 1 M selama 15 menit sebanyak dua kali selanjutnya diamati. Isolat bakteri yang mampu menguraikan CMC ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni setelah diuji dengan metode *Congo Red*.

Indeks aktivitas selulase dapat ditentukan dengan cara mengukur rasio diameter zona bening terhadap diameter koloni. Isolat yang memiliki indeks aktivitas enzim terbesar ditumbuhkan dalam media agar miring CMC untuk digunakan uji lebih lanjut.

Karakteristik Bakteri Selulolitik Terpilih Karakter makroskopis

Karakter makroskopis dilakukan dengan cara mengamati morfologi koloni bakteri (bentuk koloni, elevasi, tepi dan struktur dalam koloni). Kemudian hasil pengamatan disesuaikan dengan petunjuk identifikasi menggunakan *Bergey's Manual of systematic bacteriology* oleh Vos et al. (2009)

Karakter mikroskopis

1. Pengecatan Gram

Pengecatan Gram dilakukan dengan mengambil 1 ose isolat bakteri yang berumur 24 jam, kemudian dilarutkan kedalam 5 ml aquades steril dan divortek. Larutan tersebut kemudian diambil 100 µl dan dipindahkan pada permukaan kaca objek kemudian difiksasi. Selanjutnya ditambahkan sebanyak 1-2 tetes kristal violet selama 1 menit kemudian dicuci dengan air mengalir dan di keringanginkan. Pewarna kedua adalah ditambahkan 1 tetes iodine. Selama 1 menit kemudian dicuci dengan air mengalir. Pewarna ketiga adalah etil alkohol 95% selama 30 detik dan dicuci dengan air mengalir. Pewarna ketiga adalah safranin selama 2 menit dan dicuci dengan air mengalir, dikering anginkan, lalu diamati dengan mikroskop. Bakteri Gram Positif berwarna ungu dan bakteri Gram negatif berwarna merah.

2. Pewarnaan Endospora

Bakteri yang menunjukkan Gram positif dilanjutkan pewarnaan endospora dengan cara mengambil sebanyak 1 ose isolat bakteri 1 ose berumur 7 hari, kemudian dilarutkan kedalam 5 ml aquades steril dan divortek. Larutan tersebut

kemudian diambil 100 µl dan dipindahkan pada permukaan kaca objek kemudian difiksasi. Kaca objek tersebut kemudian digenangi dengan malakit hijau 1-2 tetes selama 10 menit dan di fiksasi hingga menguap. Selanjutnya dicuci dengan air mengalir, setelah kering ditambah safranin 1-2 tetes selama 1 menit. Kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan, selanjutnya diamati dengan mikroskop.

Uji Fisiologi Bakteri Selulolitik

Uji fermentasi glukosa

Sebanyak 1 ose bakteri berumur 24 jam diinokulasikan kedalam tabung reaksi yang berisi tabung durham dan media PRGB (*Phenol Red Glucose Broth*) yang mengandung tripton, *carbohidrat solution* dan *phenol red*. Kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Reaksi positif ditandai dengan media menjadi kuning.

Uji sitrat

Sebanyak 1 ose bakteri berumur 24 jam diinokulasikan kedalam media agar miring *Simmons citrate* secara goresan. Kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Reaksi positif diindikasikan dengan warna biru, sedangkan reaksi negatif media tetap berwarna hijau.

Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Sebanyak 1 ose bakteri berumur 24 jam dimedia CMC miring diinokulasikan diinokulasikan pada media TSIA dengan cara tusuk-gores (*stab and streak*). Kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Reaksi positif ditandai dengan media berwarna gelap atau hitam.

Uji indol

Sebanyak 1 ose bakteri berumur 24 jam diinokulasikan kedalam media yang mengandung triptopan 1%. Kemudian selama 24 jam pada suhu 30 °C. Setelah inkubasi selanjutnya ditambahkan 0,5 mL reagen kovac's. Reaksi positif ditandai

dengan terbentuknya lapisan warna merah pada permukaan media.

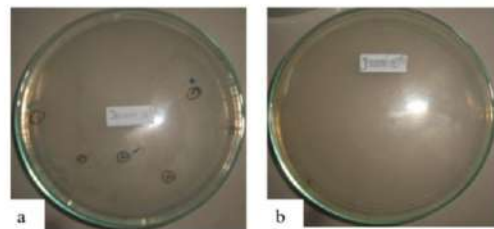
Uji MR-VP

Sebanyak 1 ose bakteri berumur 24 jam diinokulasikan kedalam dua media cair MR-VP. Kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah inkubasi selanjutnya ditambahkan reagen MB (metil merah) sebanyak 10 tetes pada media cair MR dan ditambahkan reagen AB (alcohol- α -naftol dan KOH 40%) 10 tetes pada media cair VP. Reaksi positif diindikasikan adanya warna merah pada media cair MB. Serta reaksi positif pada media cair VP ditandai dengan warna merah yang menandakan bakteri mampu menghasilkan 2,3 butadienol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Pemurnian Bakteri

Sebanyak 5 isolat bakteri selulolitik berupa koloni tunggal dan memiliki morfologi berbeda telah berhasil diisolasi dari jerami yang berasal dari lahan persawahan di Desa Kampung Jawa Kelurahan Setigede Kecamatan Bogor Barat (Gambar 1). Kelima isolat tersebut tumbuh pada media CMC agar pada pengenceran 10^{-5} dan bakteri sudah tidak tumbuh pada pengenceran 10^{-6} .



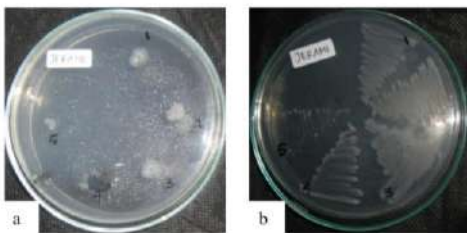
Gambar 1. Hasil isolasi bakteri selulolitik pada media CMC agar : a) pengenceran 10^{-5} , dan b) pengenceran 10^{-6}

Jerami padi tersebut digunakan sebagai salah satu substrat dalam isolasi bakteri selulolitik pada penelitian ini. Hal ini dikarenakan jerami merupakan bahan organik yang memiliki kandungan selulosa

tinggi (38%). Saraswati *et al* (2010) menyatakan bahwa bakteri selulolitik banyak ditemukan pada limbah organik yang mengandung selulosa.

Kelima isolat bakteri hasil isolasi menunjukkan kemampuan tumbuhnya pada media CMC *plate*. Sehingga isolat-isolat tersebut disebut bakteri selulolitik karena mampu memanfaatkan selulosa pada media CMC sebagai satu-satunya sumber karbon untuk pertumbuhannya. Selulosa pada media CMC merupakan selulosa yang berbentuk amorf, sedangkan selulosa pada jerami selain mengandung selulosa amorf juga mengandung selulosa kristalin. Sehingga diduga kelima isolat bakteri selulolitik ini juga mampu menghidrolisis selulosa amorf yang terdapat di jerami.

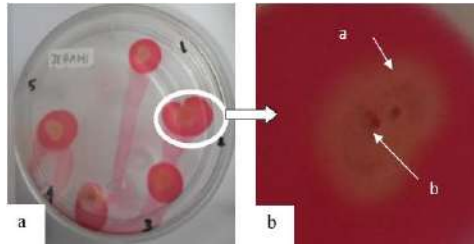
Setiap koloni tunggal dari 5 isolat hasil isolasi tersebut yang telah dibuat replika yaitu untuk pewarnaan *Congo Red* pada uji aktivitas enzim selulase secara kuantitatif dan untuk uji fisiologis ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil *replica plating*: a) untuk uji aktivitas selulolitik secara semikuantitatif, dan b) untuk uji fisiologis

Aktivitas Selulolitik Secara Semikuantitatif

Secara umum adanya aktivitas selulolitik pada kelima isolat bakteri asal jerami ini selain ditunjukkan dengan kemampuan tumbuh pada media CMC *plate*, selain itu juga diindikasikan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni selama inkubasi 24 jam yang nampak setelah di uji dengan *Congo Red* 0,1% (Gambar 3).



Gambar 3. isolat bakteri pada media CMC 1% menggunakan metode *Congo Red* setelah inkubasi 24 jam: a) zona bening, b) koloni bakteri

Zona bening tersebut menunjukkan adanya aktivitas hidrolitik oleh enzim ekstraseluler selulase yang diekskresikan oleh isolat-isolat bakteri dengan diameter tertentu. Produk hidrolisis tersebut berupa gula sederhana monosakarida dan tidak terjadi ikatan kompleks dengan *Congo Red*. Menurut Anand *et al* (2009) *Congo Red* akan berikatan secara spesifik dengan polisakarida yang memiliki ikatan β -1,4 glikosida, pada penelitian ini polisakarida yang terkandung dalam media uji adalah CMC. Sedangkan warna merah menunjukkan sisa selulosa yang tidak terhidrolisis sehingga terjadi pembentukan selulosa *Congo Red*.

Berdasarkan indeks aktivitas enzim selulase kelima isolat bakteri memiliki indeks aktivitas selulolitik antara 0,15 sampai 2,12 (Tabel 1). Isolat J2 merupakan salah satu isolat yang memiliki indeks aktivitas selulase tinggi yaitu 1,84. Perbedaan indeks aktivitas selulolitik tersebut diduga karena selulase diekskresikan oleh masing-masing isolat bakteri yang berbeda potensinya untuk menguraikan substrat dalam media pertumbuhan (Sudiana *et al*. 2001). Semakin besar indeks selulase pada isolat maka semakin besar pula aktivitas selulolitik yang dihasilkan (Apun *et al*. 2000). Sehingga isolat J2 dipilih untuk uji lanjut karena diduga merupakan isolat potensial yang

memiliki indeks selulolitik tinggi dibanding isolat 1, 3 dan 5.

Tabel 1. Indeks aktivitas enzim selulase isolat bakteri pada uji semikuantitatif

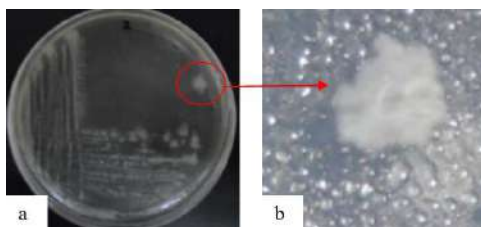
| No. | Kode isolat | Rata-rata θ zona bening | Rata-rata θ koloni | Indeks Aktivitas Enzim Selulase |
|-----|-------------|--------------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| 1. | J1 | 0,85 | 0,4 | 1,12 |
| 2. | J2 | 1,85 | 0,65 | 1,84 |
| 3. | J3 | 0,95 | 0,82 | 0,15 |
| 4. | J4 | 1,25 | 0,4 | 2,12 |
| 5. | J5 | 0,85 | 0,55 | 0,55 |

Keterangan: Angka dicetak tebal merupakan isolat terpilih dengan IAE tinggi yang diuji lebih lanjut.

Karakteristik Morfologi dan Fisiologi Isolat J2 sebagai Bakteri Selulolitik Terpilih

Karakteristik Morfologi Isolat J2

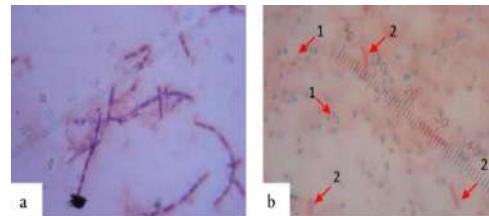
Hasil karakterisasi morfologi secara makroskopis pada isolat J2 dilakukan dengan mengamati *single colony* pada *steak* kuadran yang ditunjukkan pada Gambar 4. Isolat J2 memiliki warna koloni putih, bentuk koloni yaitu tidak beraturan, elevasi koloni mengalami pertumbuhan tipis dan merata, tepi koloni seperti berfilamen dan struktur dalam memiliki dapat meneruskan cahaya meskipun benda dibawahnya tidak tampak jelas.



Gambar 4. Karakterisasi morfologi isolat J2 secara makroskopis di media CMC plate setelah inkubasi 48 jam: a) *steak* kuadran, dan b) *single colony*

Hasil karakterisasi morfologi mikroskopis isolat J2 dengan pengecatan Gram yang ditunjukkan pada Gambar 5a. Berdasarkan Gambar 5 menunjukkan isolat J2 memiliki warna sel ungu, sel berbentuk

batang dengan ujung sel membulat. Isolat J2 mempunyai spora dengan bentuk batang pendek yang terlihat berwarna hijau sedangkan sel vegetatifnya berwarna merah (Gambar 5b).



Gambar 5. a) pengecatan Gram; b) pengecatan endospora, 1) spora berwarna hijau 2) sel vegetatif berwarna merah. Pembesaran 1000x menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX21

Berdasarkan karakterisasi makroskopis dan mikroskopisnya pada isolat J2 (Gambar 4 dan Gambar 5) yang dirujuk berdasarkan identifikasi *Bergey's Manual of systematic bacteriology* oleh Vos *et al.* (2009), isolat J2 memiliki kemiripan dengan Genus *Bacillus*. Genus *Bacillus* memiliki karakterisasi antara lain koloni dengan diameter 2-7 mm, warna koloni meliputi krem, putih, namun ada yang memproduksi pigmen berwarna hitam, coklat, orange, merah muda dan kuning. Sedangkan warna koloni isolat J2 juga berwarna putih. Bentuk koloni *Bacillus* umumnya tak beraturan

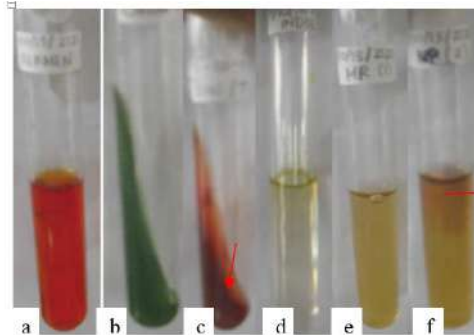
(*irreguler*) namun ada yang bulat (*circular*). Hal ini juga terdapat pada isolat J2 yaitu memiliki bentuk koloni tak beraturan (*irreguler*). Bentuk tepi koloni *Bacillus* antara lain bergelombang (*undulate*), bergerigi (*crenate*) dan berfilamen (*fimbriate*). Isolat J2 juga memiliki bentuk tepi koloni berfilamen (*fimbriate*). Struktur dalam *Bacillus* adalah kesat, granular, halus biasanya licin (*smooth*), dan tanpak lembab. Namun pada Isolat J2 dapat meneruskan cahaya meskipun benda dibawahnya tidak tanpak jelas (*translucent*). Elevasi atau permukaan koloni pada *Bacillus* umumnya memiliki pertumbuhan tipis biasanya merata (*effuse*), tebal namun merata (*raised*), dan membukit (*convex*) sedangkan pada isolat J2 pertumbuhannya tipis dan merata (*effuse*).

Karakterisasi mikroskopis pada isolat J2 menggunakan pengecatan Gram karena teknik ini merupakan langkah awal identifikasi sel bakteri yang memisahkan bakteri menjadi Gram Positif dan Gram negatif berdasarkan komposisi dan struktur kimiawi dinding selnya. Isolat J2 merupakan Gram positif karena sel berwarna ungu. Hal ini terkait dengan struktur dinding sel bakteri Gram positif yang mengandung hampir 90% peptidoglikan dan mengikat pewarna utama yaitu *Crystal violet*. Penambahan *iodine* meningkatkan afinitas pewarna pada sel dengan membentuk kompleks *Crystal violet-iodine* dalam sel sehingga sel tetap berwarna ungu. Selanjutnya dinding sel bakteri Gram positif mengalami dehidrasi setelah penambahan alkohol, pori-pori menciut, daya rembes dinding sel dan membran menurun, kompleks *Crystal violet-iodine* tidak dapat keluar dari sel sehingga sel tetap ungu. Sehingga walaupun sel ditambah pewarna terakhir yaitu safranin, sel tidak terpengaruh yang menyebabkan sel tetap berwarna ungu (Pelczar dan Chan 2008; White 2007).

Isolat J2 bakteri memiliki kemampuan mengubah sel vegetatif menjadi spora yang menjadi ciri dari morfologi sel bakteri. Semua endospora pada sel isolat J2 terlihat sudah lisis dari sel vegetatifnya sehingga disebut spora bebas yang terwarnai menjadi hijau oleh pewarna *Malacit green* (Gambar 5b). Pada saat pewarnaan endospora, *Malacit green* akan mewarnai sel vegetatif bakteri. Sedangkan endospora memiliki sifat sukar menyerap zat warna namun sekali diberi zat warna, pewarna tersebut sukar dilunturkan. Sehingga selama pewarnaan dengan *Malacit green* perlu pemanasan agar mempermudah penetrasi *Malacit green* kedalam dinding endospora. Sel vegetatif akan terdekolorasi dengan air saat pembilasan sehingga saat diwarnai dengan safranin, sel vegetatif menjadi merah sedangkan endospora tetap berwarna hijau. Endospora merupakan bentuk dorman dari sel vegetatif, sehingga

Karakteristik Fisiologi Isolat J2

Hasil karakterisasi secara fisiologis menunjukkan bahwa isolat J2 bersifat positif dalam uji produksi H_2S pada media TSIA dan produksi 2,3 butanadiol pada media VP sedangkan uji lainnya menunjukkan hasil yang negatif (Gambar 6 dan Tabel 2).



Gambar 6. Hasil uji fisiologis isolat J2 pada berbagai media: a) Uji fermentasi glukosa (-), b) Uji sitrat (-), c) Uji TSIA (+), d) Uji indol (-), e) Uji MR (-) dan f) Uji VP (+)

Pengujian karakterisasi secara fisiologi pada bakteri akan menampakkan keragaman yang sangat besar dalam hal tipe nutrisi yang dijumpai di antara bakteri. Sehingga uji fisiologis sangat penting dilakukan untuk mengidentifikasi suatu bakteri (Madigan *et al.* 2009). Bakteri metabolismenya bersifat inaktif dan mampu bertahan dalam tekanan fisik dan dikarenakan endospora memiliki struktur lebih kompleks dengan berbagai lapisan yang tidak dijumpai di sel vegetatif. Jika memperoleh media atau lingkungan yang cocok spora bebas akan berubah menjadi sel vegetatif sehingga sel vegetatif dapat tumbuh dan bahkan membentuk endospora lagi (Madigan *et al.* 2009) selulolitik isolat J2 secara fisiologis diuji melalui fermentasi glukosa, sitrat negatif, TSIA, indol dan MR-VP.

Fermentasi glukosa negatif pada isolat J2 artinya isolat tersebut tidak mampu memproduksi asam organik dan gas melalui fermentasi glukosa (Gambar 6a). Menurut Cappuccino dan Sherman (1983) fermentasi glukosa bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam menghidrolisis glukosa menghasilkan asam organik (asam asetat, asam laktat, asam format dan asam suksinat) dan gas (karbondioksida dan hidrogen). Adanya produksi asam organik menyebabkan pH media fermentasi menurun sehingga indikator *Phenol red* yang terdapat pada media berubah warna dari merah menjadi kuning. Adanya gas CO₂ ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung pada tabung Durham.

Uji sitrat negatif menunjukkan bahwa Isolat J2 tidak dapat menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi karena tidak memiliki enzim sitrat permease. Hal ini ditunjukkan pada media uji tidak mengalami perubahan warna biru (Gambar 6b). Sitrat permease berperan dalam membawa sitrat dari luar ke dalam sel. Sitrat yang berada di dalam sel akan masuk ke dalam siklus Krebs. Pada siklus Krebs, sitrat akan diubah dengan bantuan enzim sitrase menjadi asam oksaloasetat dan asam asetat. Selanjutnya asam oksaloasetat dan asam asetat diubah menjadi asam piruvat dan karbondioksida. Karbondioksida bereaksi dengan air dan natrium yang terdapat pada media *Simmon's citrat* agar sehingga membentuk natrium bikarbonat. Keberadaan natrium bikarbonat mengakibatkan media bersifat basa sehingga merubah warna indikator *bromthymoll blue* dari hijau menjadi biru (Cappuccino dan Sherman 1983).

Uji TSIA menunjukkan hasil positif artinya isolat J2 memiliki kemampuan untuk memecahkan dextrose, laktosa dan sukrosa yang terdapat pada media uji. Selain itu isolat J2 juga mampu menghasilkan H₂S yang ditunjukkan dengan perubahan media menjadi gelap (Gambar 6c). Reaksi ini dibantu oleh enzim sistein desulfurase yang dihasilkan oleh isolat J2 untuk mereduksi sulfur organik pada asam amino sistein dalam media uji menjadi H₂S (Cappuccino & Sherman 1983).

Tabel 2. Karakter Fisiologi Isolat J2

| No. | Uji | Hasil | Keterangan |
|-----|---------------------|---------------|--|
| 1. | Pewarnaan Gram | Gram positif | sel batang (<i>bacillus</i>) dengan ujung sel membulat (<i>rounded end</i>) dan berupa sel tunggal |
| 2. | Pewarnaan endospora | Ada endospora | Endospora terlepas dari sel vegetatifnya |
| 3. | H ₂ S | Positif | Terjadi perubahan warna medium menjadi gelap yaitu coklat hitam kemerahan |
| 4. | VP | Positif | Terbentuk lapisan merah dipermukaan, namun warnanya lemah |
| 5. | MF | Negatif | Tidak terbentuk cincin merah |
| 6. | Sitrat | Negatif | Tidak mengalami perubahan warna biru pada medium |
| 7. | Fermentasi glukosa | Negatif | Tidak mengalami perubahan warna orange pada medium |

Uji indol negatif menunjukkan bahwa Isolat J2 tidak dapat mengoksidasi asam amino esensial yaitu triptopan sebagai sumber karbonnya untuk membentuk indol. Hal ini dikarenakan isolat J2 tidak mempunyai enzim triptopanase yang mengubah triptopan menjadi indol, asam piruvat, dan amonia. Sehingga saat pengujian isolat J2 tidak membentuk cincin merah dipermukaan media. Jika bakteri mampu menghasilkan indol maka akan membentuk lapisan merah dipermukaan media cair setelah ditambah reagen *Kovac's*. Warna merah terjadi karena terbentuknya kompleks antara indol dan p-dimetilaminobenzaldehyd dari *Kovac's* triptofan (Lay 1994).

Uji MR negatif menunjukkan bahwa isolat J2 tidak dapat menghasilkan asam campuran dari proses fermentasi glukosa yang terkandung dalam media MR. Hal ini ditunjukkan karena pada media uji tetap berwarna kuning atau tidak mengalami perubahan warna menjadi merah setelah penambahan reagen merah metil.

Uji VP menunjukkan hasil positif artinya isolat ini mampu melakukan fermentasi butandiol yaitu 2,3-butanediol. Hal ini ditunjukkan dengan adanya lapisan berwarna merah muda pada permukaan

media setelah diberi reagen α naphthol 5% dan KOH 40%. KOH 40% akan mengubah acetylmethylcarbinol menjadi diacetyl. Sedangkan α naphthol akan membuat diacetyl menjadi warna merah (Goldman dan Green 2009).

Isolat J2 berdasarkan karakteristik fisiologis bersifat aerob karena tidak dapat menghasilkan oksigen dan tidak dapat melakukan fermentasi gula dan asam. Namun isolat J2 masih hanya mampu melakukan fermentasi dengan menghasil 2,3 butanidol, namun hasil uji ini pun sangat lemah karena cincing yang terbentuk tidak begitu berwarna merah. Karakter ini juga memiliki kemiripan dengan genus *Bacillus*. Menurut Madigan *et al.* (2009) ada dua genus bakteri Gram positif yang membentuk endospora yaitu *Bacillus* dan *Clostridium*. *Bacillus* bersifat aerob atau fakultatif aerob serta sedikit yang melakukan fermentasi. Sedangkan genus *Clostridium* yang bersifat fermentatif.

PENUTUP

Kesimpulan

Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat bakteri selulolitik pada jerami asal persawahan Bogor Barat. Indikator selulolitik ditunjukkan dengan adanya zona

bening disekitar koloni pada media CMC agar. Berdasarkan karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat bakteri terpilih yaitu isolat J2 memiliki kemiripan dengan *Bacillus* sp.

Saran

Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan pengujian kadar glukosa hasil hidrolisis jerami menggunakan isolat J2.

DAFTAR PUSTAKA

- Anand, Vennison, Sankar, Prabhu, Vasam, Raghuraman, Geoffrey, dan Vendan. 2009. Isolation and Characterization of Bacteria from the Gut Of *Bombyx Mori* that Degrade Cellulose, Xylan, Pectin and Starch and Their Impact on Digestion. *J of Insect Science*. 10(107): 1-20.
- Apun K, Jong BC dan Salleh MA. 2000. Screening and Isolation of A Cellulolytic and Amylolitic *Bacillus* from Sago Pith Waste. *J of Gen. Appl. Microbiol*. 46: 263 -267.
- Cappuccino JG. dan Sherman N. 1983. *Microbiology: A Laboratory Manual*. California: Cummings Publishing Company, Inc.
- Goldman E dan Green LH. 2009. *Practical handbook of microbiology, second edition*. New York: CRC Press.
- Lay BW. 1994. Analisis mikroba di laboratorium. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Lehninger AL. 1982. *Dasar-dasar Biokimia Jilid 1*. Terjemahan oleh Thenewidjaj, M. *Principles of Biochemistry*. Jakarta: Erlangga.
- Litbang Deptan. 2008. Tinggalkan budaya membakar jerami. (online) <http://www.litbang.deptan.go.id/berita/online/603>. [15 Oktober 2013].
- Madigan MT, Martinko JM, Dunlap PV dan Clark DP. 2009. *Biology of microorganisms. Twelfth edition*. New York: Pearson as Benjamin Cummings.
- Moat AG, Foster JW dan Spector MP. 2002. *Microbial Physiology Fourth edition*. New York: Wiley-liss, Inc.
- Pelezar M J dan Chan ECS. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Terjemahan Hadioemoto, R.S., Imas, T., Jitromo, S.S., dan Angka, S.L. *Elements of Microbiology*. Jakarta: UI Press.
- Rao SNS. 1994. *Mikroba Tanah dan Pertumbuhan Tanaman Edisi Kedua*. Jakarta: UI-PRESS.
- Saraswati R, Santosa E dan Yuniarti E. 2010. Organisme Perombak Bahan Organik. (online). <http://balittanahlitbang.deptan.go.id/pupuk10.pdf>. [2 Maret 2012].
- Sastrohamidjojo H. 2005. *Kimia Organik*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Sudiana, Rahayu, Imaduddin, dan Rahmansyah. 2001. Cellulolytic Bacteria of Soil of Gunung Halimun Nasional Park. *Berita Biologi*. 5(6): 703-710.
- Wati LS, Kumari BS, Kundu S. 2007. Paddy straw as substrat for ethanol production. *Indian J Microbiol*. 47: 26-29.
- White D. 2007. *The Physiology and Biochemistry of Prokaryotes*. New York: Oxford University Press.
- Vos PD, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH dan Whitman WB. 2009. *Bergey's Manual of systematic bacteriology: second edition Volume Tree the Firmicutes*. New York: Springer Dordrecht Heidelberg London.

“Halaman Sengaja dikosongkan”

BIOENKAPSULASI YOGHURT *Lactobacillus acidophilus* SEBAGAI ANTIHIPERKOLESTROLEMIA

Yulianto Ade Prasetya* dan Khoirun Nisyak
Program Studi Teknologi Laboratorium Medik,
Jalan Raya By Pass Krian Km.33 Sidoarjo, 61263
STIKes RS Anwar Medika Sidoarjo.
*Email: yuliantoadeprasetya@gmail.com

ABSTRAK

Lactobacillus acidophilus dalam bentuk yoghurt mempunyai efek penurunan terhadap hiperkolesterolemia namun dapat mengalami stress akibat asam lambung. Teknik bioenkapsulasi mampu meningkatkan viabilitas dan perlindungan terhadap bakteri asam laktat tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bahan bioenkapsulasi *L. acidophilus* dari *Whey Protein Isolate* (WPI), kasein, gum arab, dan amilum yang terbaik viabilitasnya terhadap asam lambung dan mengetahui dosis bioenkapsulasi yoghurt (*single*, *double* atau *triple dose*) yang efektif sebagai terapi antihiperkolesterolemia. Viabilitas bioenkapsulasi yoghurt terhadap asam lambung dilakukan secara *in vitro* dengan teknik *Total Plate Count* (TPC) kemudian diujikan aktivitas antihiperkolesterolemia secara *in vivo* terhadap tikus putih galur wistar. Hasil menunjukkan bahwa bahan dari amilum menunjukkan hasil yang terbaik dalam peningkatan viabilitas sebelum dan sesudah diberi perlakuan asam lambung yakni dari 3.0×10^6 CFU/g menjadi 2.1×10^8 CFU/g. Dosis yang efektif sebagai antihiperkolesterolemia pada tikus putih wistar yakni *single dose* dengan nilai rataan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) sebesar 15mg.dL^{-1} .

Kata kunci: bioenkapsulasi, hiperkolesterolemia, *Lactobacillus acidophilus*, yoghurt

PENDAHULUAN

Hiperkolesterolemia merupakan faktor penyebab terjadinya jantung koroner dan stroke, dimana di Indonesia sebanyak 36 juta (18% dari total keseluruhan populasi) menderita hiperkolesterolemia dan 80% dari total tersebut meninggal akibat serangan jantung (Misbach & Kalim, 2009). Hiperkolesterolemia merupakan kondisi dimana kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) dalam darah meningkat dan dapat berkembang menjadi aterosklerosis pada pembuluh darah arteri berupa penyempitan pembuluh darah dan mengakibatkan hipertensi (Hardiningsih & Nurhidayat, 2006). Hipertensi merupakan masalah kesehatan yang kompleks dan dapat menimbulkan komplikasi yang serius sehingga dapat meningkatkan biaya perawatan yang mahal. Namun, hal tersebut dapat dicegah dengan menyediakan makanan fungsional berbasis susu yakni Yoghurt (Kimoto *et al*, 2002).

Yoghurt dengan kandungan bakteri asam laktat terbukti secara klinis mampu menurunkan resiko hipertensi, menyerap bahan berbahaya dari saluran cerna, mempunyai efek antagonis terhadap bakteri patogen dalam saluran cerna, dan mempunyai efek penurunan resiko terhadap penyakit hiperkolesterolemia. *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri asam laktat yang sering digunakan dalam produk yoghurt dan secara klinis mampu memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan dan keseimbangan flora normal saluran cerna (Burke *et al*, 2001). Viabilitas bakteri ini selama transportasi menuju usus dihambat dengan keberadaan asam lambung, garam empedu, dan kompetisi dengan mikroflora normal usus. Bioenkapsulasi bakteri *L. acidophilus* dapat menjadi solusi untuk menghadapi permasalahan tersebut.

Bioenkapsulasi yakni pembentukan kapsul menyelubungi sel probiotik dengan

bahan enkapsulat tertentu yang bermanfaat untuk meningkatkan viabilitas dan perlindungan dari kondisi yang ekstrim (Widodo, 2003). Gum arab, amilum, *whey protein isolate* (WPI), dan kasein merupakan bahan prebiotik yang dapat berperan sebagai bahan bioenkapsulasi karena mempunyai kandungan *Soluble Dietary Fibre* (SDF) dan *Resistant Starch* (RS) yang dapat digunakan sebagai sumber nutrisi probiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peningkatan viabilitas terbaik *L.acidophilus* dari bahan bioenkapsulasi yang digunakan yakni gum arab, WPI, amilum, dan kasein. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui dosis yoghurt (*single, double, triple*) yang efektif sebagai terapi hiperkolesterolemia.

METODE PENELITIAN

Pembuatan Bioenkapsul *L. acidophilus*

Satu ose *L. acidophilus* yang tumbuh diinokulasikan ke dalam MRS Broth dan diinkubasi selama 18 jam suhu 37°C. Kultur yang tumbuh selama masa inkubasi tersebut kemudian disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 100.000 rpm dan diambil supernatannya. Supernatan yang didapat ditambahkan 0.5 ml susu skim 10%, 4.5 ml gliserol 1 M, 1% sodium alginat, dan 0.5% bahan bioenkapsulasi (gum arab, amilum, *whey protein isolate*, dan kasein) kemudian diaduk sampai homogen, dan teteskan ke dalam CaCl₂.2H₂O. Hasil tersebut didiamkan selama 30 menit kemudian disaring dan dicuci dengan aquadest.

Pembuatan Yoghurt

Bioenkapsulasi *L.acidophilus* yang terbentuk diinokulasikan sebanyak 5% ke dalam susu sapi yang telah dipasteriusasi dan ditambahkan skim sebanyak 10% dari volume susu sapi kemudian diinkubasi selama 2 hari dalam suhu ruang.

Uji Viabilitas Bioenkapsulasi Yoghurt

Lakukan pengenceran bertingkat pada yoghurt sampai 10⁻⁷dengan

menginokulasikan sebanyak 1 ml yoghurt ke dalam 9 ml larutan pepton steril. Hasil pengenceran kemudian dituangkan masing-masing ke dalam MRS agar dan ratakan (metode *pour plate*). Inkubasi biakan selama 24 jam pada suhu 37°C. Lakukan perhitungan jumlah koloni dengan metode *Total Plate Count* (TPC).

Pengujian Viabilitas Yoghurt terhadap asam lambung secara *in vitro*

Inokulasikan yoghurt sebanyak 1 ml ke dalam 9 ml larutan asam lambung (HCl 37%) steril dan inkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. Lakukan pengenceran bertingkat sampai 10⁻⁷. Tuangkan hasil pengenceran dalam MRS agar, ratakan, dan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Lakukan perhitungan jumlah koloni dengan metode *Total Plate Count* (TPC).

Pengujian bioenkapsulasi yoghurt terhadap hiperkolesterolemia secara *in vivo*

Sebanyak dua puluh ekor tikus wistar jantan yang berumur 2 bulan diberi pakan khusus untuk meningkatkan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) dalam darah selama satu minggu. Tikus tersebut kemudian dikelompokkan dalam empat kelompok dan diberi dosis yoghurt secara sonde selama dua minggu yakni kelompok I (kontrol), kelompok II (*single dose*: 0.16 ml), kelompok III (*double dose*: 0.32 ml), dan kelompok III (*triple dose*: 0.48 ml). Setelah dua minggu, darah tikus wistar diambil dan diukur kadar LDL dalam darah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

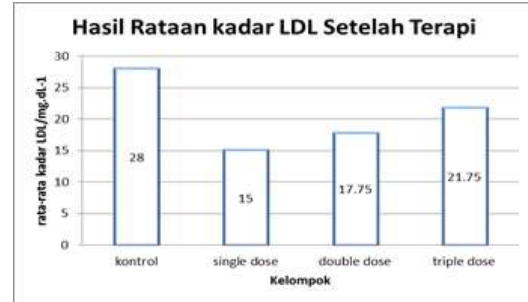
Bahan bioenkapsulasi yang digunakan harus memiliki sifat pengelmu yang unik dan pembentukan film yang mempengaruhi kemampuannya sebagai bahan enkapsulat. Pada umumnya bahan penyalut tidak larut air digunakan untuk mengenkapsulasi bahan inti yang larut air atau sebaliknya. Bahan penyalut untuk bioenkapsulasi dengan

teknik *spray drying* haruslah memiliki rasa tawar, kelarutan tinggi, kemampuan emulsifikasi, pembentukan film, dan sifat pengeringan yang baik. Selain itu, bahan penyalut dalam larutan konsentrasi tinggi harus memiliki viskositas yang rendah (Bertolini *et al*, 2001).

Tabel 1. Hasil Uji Viabilitas Bioenkapsulasi Yoghurt pada *L.acidophilus* terhadap asam lambung

| Bahan Enkapsulasi | Jumlah koloni sebelum perlakuan asam | Jumlah koloni sesudah perlakuan asam |
|-------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| WPI | 3.0×10^6 CFU/g | 1.08×10^7 CFU/g |
| Kasein | 7.8×10^7 CFU/g | 1.3×10^7 CFU/g |
| Gum Arab | 3.0×10^8 CFU/g | 5.0×10^7 CFU/g |
| Amilum | 3.0×10^6 CFU/g | 2.1×10^8 CFU/g |
| Kontrol | 2.52×10^7 CFU/g | 5.8×10^6 CFU/g |

Bahan amilum memiliki viabilitas yang baik (Tabel 1) dimana viabilitas *L.acidophilus* sebelum dan sesudah diberi perlakuan asam lambung menjadi meningkat bila dibandingkan kontrol dan bahan bioenkapsulasi lain yakni dari 3.0×10^6 CFU/g menjadi 2.1×10^8 CFU/g. Amilum merupakan oligosakarida yang mengandung SDF sebagai nutrisi probiotik dan sering digunakan untuk bahan enkapsulasi. Penelitian Wahyudi (2008) menunjukkan bahwa biomassa *B. bassiana* yang dienkapsulasi natrium alginate dan amilum jagung tidak hanya stabil selama penyimpanan suhu kamar, tetapi juga memiliki viabilitas yang tinggi walaupun setelah penyimpanan beberapa bulan. Bahan enkapsulasi dikatakan berhasil jika bahan yang dienkapsulasi memiliki viabilitas yang tinggi dan sifat fisiologis yang relatif sama dengan sebelum dienkapsulasi (Triana, 2005).



Gambar 1. Diagram Batang Hasil Rataan Kadar LDL

Bio-yoghurt dapat mereduksi LDL (Gambar 1) diduga karena asam laktat hasil metabolisme *L.acidophilus* mampu mengikat kolesterol dalam usus sehingga terhambat untuk termobilisasi dalam aliran darah. Menurut Rafter (2003), produk bakteri fermentasi, khususnya asam lemak rantai pendek, dapat menghambat sintesis kolesterol dalam hati dan memobilisasi kolesterol plasma ke hati. Berdasarkan rata-rata kadar LDL setelah dilakukan terapi (Gambar 1), terdapat pengaruh penurunan yang paling signifikan pada *single dose*, yaitu 16 mL/hari untuk seekor tikus selama dua minggu pemberian bio-yoghurt. Peningkatan dosis justru mengurangi penurunan LDL. Hal ini disebabkan karena semakin banyak dosis maka semakin besar kompetisi antar probiotik untuk mendapatkan nutrisi dari yoghurt. Kompetisi ini menyebabkan pertumbuhan probiotik terhambat sehingga kurang efektif dalam penurunan LDL. Pertumbuhan probiotik dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, ketersediaan nutrisi dan jumlah koloni awal..

KESIMPULAN

Bahan bioenkapsulasi dari amilum memiliki viabilitas tertinggi sebelum dan sesudah perlakuan dengan asam lambung yakni 3.0×10^6 CFU/g menjadi 2.1×10^8 CFU/g. Pengaruh penurunan LDL paling signifikan pada *single dose* yakni 16 ml/hari untuk seekor tikus.

DAFTAR PUSTAKA

- Bertolini A.C., A.C. Siani dan C.R.F. Grosso. 2001. Stability of Monoterpenes Encapsulated in Gum Arabic by Spray Drying. *J. Agr. Food. Chem.* 49:780–785.
- Burke V, Hodgson JM, Beilin LJ, Giangiulioi N, Rogers P, Puddey IB. 2001. Dietary Protein And Soluble Fiber Reduce Ambulatory Blood Pressure In Treated Hypertensives. *Hypertension.* 2001; 38: 821-6.
- Hardiningsih dan Nurhidayat. 2006. Pengaruh Pemberian Pakan Hiperkolesterolemia Terhadap Bobot Badan Tikus Putih Wistar yang Diberi Bakteri Asam Laktat. *Biodiversitas.* Vol.7. 127-130.
- Kimoto, H., S. Ohmomo, T. Okamoto. 2002. Cholesterol removal from media by Lactococci. *Journal Dairy Science* 85:3182-3188.
- Misbach, J. & Kalim, H. 2009. *Kaitan Penyakit Kardiovaskular, Hiperkolesterolemia dan Pola Hidup.* [Http://medicastore.com/cardiovascular/art193.html](http://medicastore.com/cardiovascular/art193.html). [24 Agustus 2017].
- Rafter, J. 2003. Probiotics and colon cancer. *Best Practice & Research: Clinical Gastroenterology.* 17(5): 849-859.
- Triana, E., Yulianto, dan Nurhidayat, N., 2005, Uji Viabilitas *Lactobacillus* sp. Mar 8 Terenkapsulasi, *Biodiversitas*, 7:114-117.
- Wahyudi, P., 2008, Enkapsulasi Propagul Jamur Entomopatogen *Beauveria bassiana* Menggunakan Alginat dan Pati Jagung sebagai Produk Mikroinsektisida, *Jurnal Ilmu Kefarmasin Indonesia*, 6:51-56
- Widodo. 2003. Bioenkapsulasi Probiotik (*Lactobacillus casei*) dengan Pollard dan Tepung Terigu Serta Pengaruhnya Terhadap Viabilitas dan Laju Pengasaman, *Jurnal*
- Teknologi dan Industri Pertanian,* 14:98-106

PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN KADAR FENOL TOTAL PADA EKSTRAK KULIT BUAH PISANG (*Musa acuminata* Colla)

Rosida, Diyan Ajeng RA
Akademi Farmasi Jember
Email: rosidahari@gmail.com

ABSTRAK

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat oksidasi molekul lain. Tubuh tidak mempunyai sistem pertahanan antioksidatif yang berlebihan, sehingga tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Kekhawatiran terhadap efek samping antioksidan sintetik menjadikan antioksidan alami menjadi alternatif yang dipilih. Flavonoid merupakan senyawa fenolat (hidroksil fenolik) yang mampu bertindak sebagai antioksidan dan umumnya terdapat pada tanaman. Salah satu limbah tanaman yang mempunyai kandungan flavonoid adalah kulit buah pisang (*Musa acuminata*). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menetapkan kadar flavonoid total dan melakukan pengujian aktivitas antioksidan kulit buah pisang menggunakan *diphenyl picryl hydrazil hydrate* (DPPH) sebagai radikal bebas. Metode ekstraksi yang digunakan adalah remaserasi dengan pelarut etanol 96%. Penetapan kadar flavonoid total menggunakan katekin sebagai standar dan pengujian DPPH menggunakan metode spektrofotometri. Hasil penelitian menunjukkan kandungan flavonoid total ekstrak etanol kulit buah pisang sebesar $0,79 \pm 0,03$ %b/b, aktivitas antioksidan tertinggi dalam IC50 terhadap DPPH sebesar 70,41 mg/L.

Kata Kunci : kulit buah pisang, flavonoid total, aktivitas antioksidan, IC50

PENDAHULUAN

Kesehatan merupakan masalah yang cukup serius. Banyak penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas, radikal bebas dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lipid sehingga menginisiasi terjadinya degeneratif dan kerusakan sel.

Faktor lingkungan seperti polusi, intensitas uv yang berlebih, suhu, bahan kimia dan kekurangan gizi dapat mengakibatkan tubuh terpapar radikal bebas. Bila radikal bebas berlebihan akan menciptakan ketidakseimbangan antara molekul radikal bebas dan antioksidan endogen. Ketika jumlah radikal bebas melebihi kapasitas tubuh untuk menetralsirkannya, maka terbentuk stress oksidatif yang menyebabkan kerusakan struktur sel, jaringan dan organ (Leong dan Shui, 2001).

Untuk meredam aktivitas radikal bebas diperlukan antioksidan. Antioksidan adalah molekul yang dapat mendonorkan elektronnya kepada molekul radikal bebas, sehingga menghentikan reaksi radikal bebas.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa ekstrak tanaman memiliki senyawa

antioksidan seperti fenolik, flavonoid yang lebih efektif dan lebih aman daripada antioksidan sintesis, seperti *butylated hydroxytoluene*. Antioksidan asam fenolat, polifenol, flavonoid menghambat radikal peroksida, hidroperoksida atau *lipid peroxyl*, menghambat mekanisme oksidatif, sehingga mencegah penyakit degeneratif, selain itu berguna sebagai anti tumor dan mempunyai efek pencegahan pada kerusakan hati. Flavonoid memiliki kemampuan anti-inflamasi dan antioksidan yang terbukti mampu menghambat proses stress oksidatif pada penyakit kardiovaskular dan neurodegeneratif.

Salah satu buah yang mempunyai kandungan flavonoid adalah pisang (*Musa acuminata*). Buahnya banyak disukai untuk di konsumsi secara langsung sebagai buah atau diolah menjadi produk konsumsi. Namun hal ini tidak diimbangi dengan pengolahan limbah dari kulit buah pisang yang sangat banyak jumlahnya. Limbah kulit buah pisang mewakili sekitar 30% dari buah. Hal ini merupakan masalah lingkungan karena mengandung sejumlah besar nitrogen, fosfor dan kadar air yang tinggi sehingga

rentan terhadap perkembangan mikroorganisme (Gonzales *et al*, 2009).

Total jumlah senyawa fenol pada kulit pisang (*Musa acuminata* Colla) sekitar 0,90 sampai 3,0 g/100g DW (Nguyen, Ketsa & van Doorn, 2003 ; Someya, Yosiki & Okubo, 2002). Kulit pisang matang juga mengandung senyawa seperti anthosianin delphinidin, cyaniding, dan catekolamin (Kanazawa & Sakakibara, 2000). Berdasarkan penelitian kami sebelumnya bahwa pemberian ekstrak kulit buah pisang secara topikal mampu mempercepat perbaikan kondisi pasca luka bakar. Hal ini ditandai dengan penurunan konsentrasi lipid peroksidase, peningkatan ekspresi VEGF dan kolagen.

Berdasarkan potensi yang dimiliki kulit buah pisang sebagai antioksidan alami dan mengandung banyak komponen yang senyawa bioaktif (flavonoid, fenol), maka perlu dipelajari lebih lanjut kandungan flavonoid total dan pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan DPPH secara spektrofotometri.

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

Bahan penelitian adalah kulit buah pisang (*Musa acuminata* Colla) yang diperoleh dari daerah Genteng, Banyuwangi dan dideterminasi di Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi; Katekin ex. Sigma; etanol teknis; plat silica gel 60 F₂₅₄ ex. E. Merck; Difenilpikril Hidrazil Hidrat (DPPH) ex. Sigma; Pelarut untuk Spektrofotometer ex. E. Merck; Freeze dryer Heidolph; rotavapor Heidolph; Spektrofotometer Hitachi U1800.

B. Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratories in vitro yang bertujuan untuk menetapkan kadar katekin dan menguji aktivitas antiradikal bebas DPPH sebagai kapasitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah pisang dari daerah Genteng-Banyuwangi. Sebagai variable tergantung adalah kadar katekin dan perendaman radikal bebas DPPH; variable bebas adalah ekstrak etanol dalam berbagai konsentrasi.

C. Prosedur Kerja

Pembuatan Serbuk Kulit Buah

Ditimbang 1 kg kulit buah pisang matang dan dikeringkan dengan teknik *freeze drying*. Bahan yang telah dikeringkan kemudian ditimbang dan disimpan dalam lemari es.

Pembuatan Ekstrak dan Larutan Uji

Ditimbang 250 gram serbuk kulit buah pisang, kemudian diekstraksi dengan etanol dengan cara remaserasi. Perendaman dilakukan selama 3 x 24 jam ekstraksi dilakukan 2-3 kali. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotavapor* sehingga dihasilkan ekstrak kental.

Uji Kualitatif Flavonoid

Uji kualitatif flavonoid pada ekstrak kulit buah pisang menggunakan pembanding katekin yang ditotolkan secara berurutan. Penotolan sebanyak 10 µl pada plat silica gel 60 F₂₅₄ (E. Merck). Penampak noda menggunakan larutan FeCl₃ 10%.

Penentuan Kadar Flavonoid Total

Total flavonoid menggunakan standar katekin dengan metode Sultana *et al*. (2008) dengan beberapa modifikasi yaitu 1 ml larutan ekstrak air yang mengandung 0,01 g/ml bahan kering ditempatkan dalam labu ukur 10 ml. Kemudian ditambahkan 5 ml air. Tambahkan 0,3 ml NaNO₂ (5% b/v). Setelah 5 menit tambahkan 0,6 ml AlCl₃ (10% b/v). Setelah 5 menit tambahkan 2 ml larutan NaOH 1 M. Terakhir tambahkan air sampai 10 ml (garis tanda pada labu) Campuran dikocok dengan kuat, ukur absorbansi warna pink pada 510 nm. Kurva baku dibuat menggunakan larutan standar katekin 10 – 100 mg/L. Semua sampel dianalisis dalam tiga replikasi dan hasil di rata-rata. Kadar flavonoid secara kuantitatif diukur dengan menggunakan kurva standar katekin.

Uji Aktivitas Antioksidan

Ekstrak kental kulit buah pisang hasil evaporasi dilarutkan dengan etanol menjadi konsentrasi 160 mg/L, kemudian diencerkan menjadi empat variasi konsentrasi yaitu 80 ; 90,4 ; 104,3 dan 125,22 mg/L, tujuannya untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan membuat kurva IC50. Masing-masing ekstrak sebanyak 1,8 mL direaksikan

dengan DPPH 0,04 % sebanyak 0,5 mL. Kemudian diinkubasi selama 30 menit, kemudian diukur absorbansi sampel dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 516,5 nm. Penentuan IC₅₀ dibuat dari persamaan regresi antara persentase aktivitas radikal bebas DPPH pada ekstrak terhadap 5

konsentrasi tadi. Aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan rumus berikut ini:

$$\% \text{Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Berikut ini tabel mengenai klasifikasi aktivitas antioksidan menurut Blois.

Tabel 1. Klasifikasi Aktivitas Antioksidan (Blois, 1958)

| Nilai IC ₅₀ | Antioksidan |
|------------------------|-------------|
| <50ppm | Sangat kuat |
| 50-100 ppm | Kuat |
| 100-150 ppm | Sedang |
| 151-200 ppm | Lemah |

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji kualitatif flavonoid pada ekstrak kulit buah pisang menggunakan pembanding katekin yang ditotolkan secara berurutan. Penotolan sebanyak 10 µl pada plat silica gel 60 F₂₅₄ (E. Merck). Hasil positif mengandung

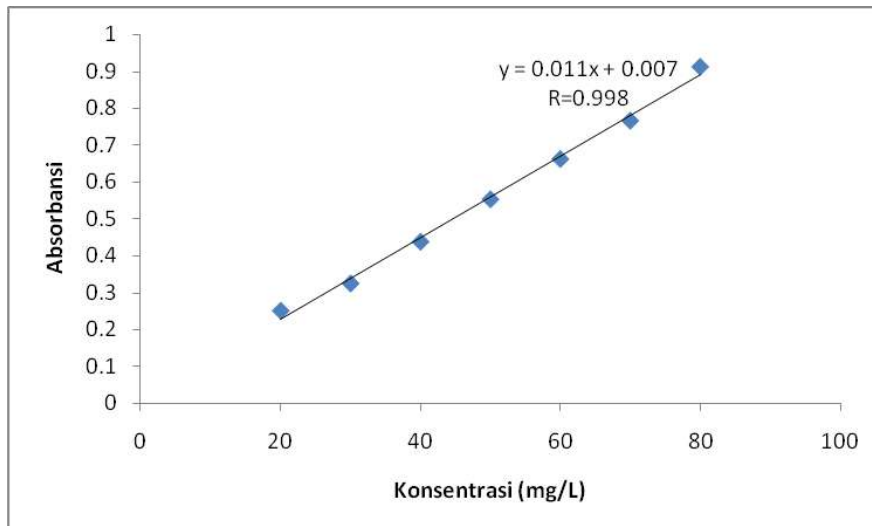
katekin ditandai dengan penampakan noda yang sama dengan standar katekin dan memiliki nilai R_f (waktu retensi) yang sama. Hasil elusi dan adanya noda tampak dengan penampakan noda larutan FeCl₃, didapatkan R_f sebesar 0,8 (tabel 2).

Tabel 2. Profil KLT ekstrak kulit buah pisang

| Eluen | Penampak Noda | Harga R _f | |
|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------|-----------------|
| | | Ekstrak kulit buah pisang | Standar Katekin |
| Kloroform : | | | |
| Metanol : Air (6,5 : 3,5 : 1) | Larutan FeCl ₃ 10% | 0,8 | 0,8 |

Pada penelitian ini untuk mengetahui kadar flavonoid total menggunakan standarisasi katekin yang terkandung pada ekstrak kulit buah pisang. Menurut Schmid *et al* (2010), ekstrak etanol kulit *Parapiptadenia rigida* yang mengandung katekin dengan konsentrasi 1 dan 10µM menunjukkan peningkatan proliferasi fibroblast sedangkan katekin dengan konsentrasi 20 µM menunjukkan anti proliferasi.

Analisis kadar katekin dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometer panjang gelombang maksimum spektra katekin adalah 510 nm. Hasil pengamatan dan perhitungan standar Katekin diperoleh kurva baku dengan persamaan $y = 0,011x + 0,007$; dengan $r = 0,9975$. Dari persamaan ini didapat kadar Katekin pada Ekstrak Kulit Buah Pisang sebesar $0,79 \pm 0,03$ %b/b.



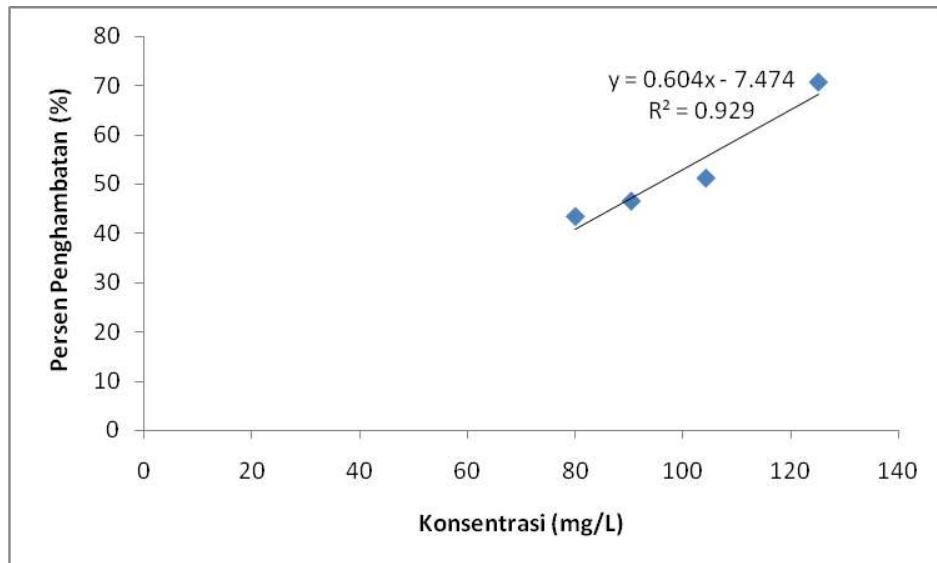
Gambar 1. Kurva standar katekin dalam berbagai konsentrasi 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 mg/L terhadap absorbansi

Uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif menggunakan metode DPPH dipilih karena ujinya sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel (Hanani *et al.*, 2005). Pengujian radikal bebas DPPH diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum. Pembuatan spectra sinar tampak lautan DPPH pada rentang 400-600 nm. Hasil penelitian menunjukkan kurva normal (sigmoid) pada daerah puncak 516,5 nm. Adanya aktivitas antioksidan dari sampel mengakibatkan terjadinya perubahan warna pada larutan DPPH dalam metanol yang semula berwarna ungu pekat menjadi kuning pucat (Permana *et al.*, 2003).

Selanjutnya dilakukan pengukuran waktu inkubasi ekstrak dengan larutan DPPH. Waktu inkubasi menggunakan 0, 10, 20 dan 30 menit. Hasil absorbansi menunjukkan bahwa absorbansi stabil mulai menit 10 sampai menit ke 30. Pada penelitian ini menggunakan waktu inkubasi 30 menit.

Aktivitas antioksidan dari ekstrak dinyatakan dalam persen penghambatannya terhadap radikal DPPH. Persentase penghambatan ini didapatkan dari perbedaan serapan antara absorbansi DPPH dalam metanol dengan absorbansi sampel yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516,5 nm. Selanjutnya persamaan regresi yang diperoleh dari grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak kulit buah pisang dayak dengan persen penghambatan DPPH digunakan untuk mencari nilai IC₅₀. Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH (Andayani *et al.*, 2008).

Uji aktivitas antioksidan atau hambatan terhadap radikal bebas menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah pisang memiliki aktivitas antioksidan. Hasil pengujian dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Hubungan konsentrasi ekstrak kulit buah pisang dengan persen penghambatan

Berdasarkan persamaan regresi linier tersebut dapat ditentukan nilai IC₅₀ ekstrak kulit buah pisang sebesar 70,41 mg/L. Berdasarkan klasifikasi aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak kulit buah pisang memiliki antioksidan yang kuat yaitu rentang 50 – 100 mg/L (Blois, 1958).

Aktivitas penghambatan radikal bebas DPPH ekstrak kulit buah pisang ditentukan oleh berbagai senyawa antioksidan yang terdapat pada tumbuhan tersebut. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kulit pisang kaya senyawa fitokimia. Senyawa fenolat yang telah diketahui memiliki efek antioksidan yang sangat kuat. Total jumlah senyawa fenol pada kulit pisang (*Musa acuminata* Colla) sekitar 0,90 sampai 3,0 g/100g DW (Nguyen, Ketsa & van Doorn, 2003 ; Someya, Yosiki & Okubo, 2002). Kulit pisang matang juga mengandung senyawa seperti anthosianin delphinidin, cyaniding, dan catekolamin (Kanazawa & Sakakibara, 2000). Selain itu telah diidentifikasi pada kulit pisang caratenoids seperti β -carotene, α -carotene dan xantophil (Subagio, Morita & Sawada, 1996), sterol dan triterpens seperti β -sitosterol, stigmasterol, campesterol, cycloeucalenol, cycloartenol dan 24 metylene cycloartenol (Knapp & Nicholas, 1969).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit buah pisang (*Musa acuminata* Colla) mengandung

flavonoid total $0,79 \pm 0,03$ %b/b dan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 70,41 mg/L.

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani, R., Y. Lisawati, Maimunah, 2008, Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenol Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L.). Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol 13, No.1
- Blois, M.S. 1958, Antioxidant Determinations By the use of a stable free Radical, Nature. Vol.181: 1999-1200
- Gonzales R.M., Lobo, G.M., Gonzales M., 2010, Antioxidant Activity in Banan Peel Extraction : Testing Extraction Conditions and Related Bioactive Compounds, Food Chem, 199, 1030-1039
- Hanani, E., A. Mun'im, R. Sekarini. 2005, Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons *Calispongia* sp dari Kepulauan Seribu, Majalah Ilmu Kefarmasian Vol II No.3 127-133
- Kanazawa, K., & Sakakibara, H., 2000, High content of dopamine, a strong antioxidant, in Cavendish banana, J Agric and Food Chem, 48(3), 844–848

- Knapp, F. F., & Nicholas, H. J. 1969, Sterols and triterpenes of banana peel, *Phytochem*, 8(1), 207–214
- Leong L.P., Shui, G., 2002, An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruits in Singapore Markets, *Food Chemistry*, 76 : 69-75
- Nguyen, T. B. T., Ketsa, S., & van Doorn, W. G., 2003, Relationship between browning and the activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage, *Postharvest Biol and Tech*, 24(3), 187-193
- Permana, D., N. H. Lajis, F. AbasA.G. Othman, R. Ahmad, M. Kitajama, H. TakayamaN. Aimi. 2003, Antioksidative Constituents of *Hedyotis Diffusa* Wild, *Natural Product Sciences*, 9 (1):7-9
- Schmidt CA, Murillo R, Bruhn T, Bringmann G, Goettert M, Heinzmann B, Brecht V, Laufer SA, Merfort I, 2010, Catechin derivatives from *Parapiptadenia rigida* with *in vitro* woundhealing properties, *J Nat Prod*, 73(12), 2035–204
- Someya, S., Yoshiki, Y., & Okubo, K., 2002, Antioxidant Coumpounds from Bananas (*Musa cavendish*), *Food Chem*, 79(3), 351-354
- Subagio, A., Morita, N., & Sawada, S., 1996, Carotenoids and their fatty-acid esters in banana peel, *J Nutr Sci and Vitam*, 42(6), 553–566
- Sultana, B., Anwar, F., Asi, M.R. and Chatha, S.A.S. 2008, Antioxidant potential of extracts from different agro wastes: stabilization of corn oil, *Grasas y Aceites*, 59 (3) : 205-217

IDENTIFIKASI GEN TEM ISOLAT KLINIK *Escherichia coli* PENGHASIL ESBLs DI RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA

Yulianto Ade Prasetya

Program Studi Teknologi Laboratorium Medik,
Jalan Raya By Pass Krian Km.33 Sidoarjo, 61263
STIKes RS Anwar Medika Sidoarjo.
Email: yuliantoadeprasetya@gmail.com

ABSTRACT

Escherichia coli producing Extended Spectrum Beta Lactamases (ESBLs) can turn off the cephalosporin third and fourth generation and monobactam (aztreonam). *E.coli* producers ESBLs who encoded by TEM genes can hydrolyzed ampicillin, cephalontin, and cephalozin. The purpose of this research is to identify the existence of TEM genes from some space at RSUD Dr. Soetomo Surabaya which has never been previously reported. The kind of research that used is observational descriptive with the approach genetic molecule. About thirty isolate clinical *E.coli* ESBLs producers of urine patients in January and February 2014 done with amplification of PCR, electrophoresis, and the result visualized on agarose gel 1.5%. The result was ten isolates (30%) positively containing TEM genes and most common to find in the Interna Department.

Keywords: ESBLs, *Escherichia coli*, RSUD Dr. Soetomo Surabaya, TEM

PENDAHULUAN

Escherichia coli merupakan patogen oportunistik yang telah menduduki insidensi tertinggi penyebab infeksi saluran kemih (Jan *et al*, 2009) dan saluran pencernaan (Russo & Johnson, 2003). Bakteri ini juga sering menunjukkan peningkatan resistensi terhadap berbagai antibiotik (Jan *et al*, 2009; Miranda *et al*, 2004) dan bertanggungjawab terhadap wabah infeksi nosokomial, peningkatan morbiditas dan mortalitas serta peningkatan biaya kesehatan karena mampu memproduksi *Extended Spectrum Beta Lactamases* (ESBLs) (Colodner, 2013; Chaudary, 2004). ESBLs merupakan enzim yang dikode oleh gen (umumnya terdapat dalam plasmid) yang mampu mendegradasi antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga dan keempat, serta monobaktam (aztreonam) (Kuntaman *et al*, 2011; Sharma *et al*, 2010).

Bakteri penghasil ESBLs yang dikode oleh gen TEM menyebabkan resistensi terhadap ampisilin, sefalontin, dan sefazolin (Kiratisin *et al*, 2008). Prevalensi gen ini di

beberapa negara berbeda-beda dan cukup tinggi yakni 77% di Thailand (Kiratisin *et al*, 2008), 48% di Ghana (Oduro-Mensah *et al*, 2016), dan 1.2% di Selandia Baru (Hefferman *et al*, 2009), tetapi di Indonesia khususnya di RSUD Dr. Soetomo Surabaya belum pernah dilaporkan sebelumnya. Identifikasi bakteri penghasil ESBLs secara fenotipik telah rutin dilakukan secara *Double Disk Synergy Test* (DDST) dan perangkat Phoenix, namun secara genotipik belum dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan gen TEM penghasil ESBLs pada *Escherichia coli* yang berasal dari urin pasien pada bulan Januari dan Februari 2014 Koleksi Laboratorium Mikrobiologi Klinik di RSUD Dr. Soetomo.

METODE PENELITIAN

Persiapan panen sel

Isolat klinik *E.coli* yang digunakan berasal dari urin pasien yang merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya pada bulan Januari dan Februari 2014. Isolat klinik

E.coli diinokulasikan ke medium MHA (*Mueller Hinton Agar*) yang mengandung ampicilin 0.128 mg/ml dan diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C. Satu ose koloni yang tumbuh disuspensikan dengan 0.1 ml aquadest steril dalam mikrotube dan diinkubasi dalam *hot plate* suhu 100°C selama 5 menit. Sel kemudian disentrifugasi 100 rpm selama 5 menit pada suhu ruang. Supernatan diambil sebanyak 15 µl dan digunakan sebagai DNA *template* untuk amplifikasi.

Amplifikasi gen TEM

Sebanyak 5 µl *template* dicampur dengan 25 µl campuran reaksi PCR (0.5 U Taq Polymerase, 0.2 mM dNTP, 1.5 mM MgCl₂, Buffer 1X, dan 1.25 µl primer). Primer spesifik:

5'ATGAGTATTCAACATTTCCG3' dan 5'CTGACAGTTACCAATGCTTA3'. Kondisi PCR yang digunakan yaitu: denaturasi awal pada suhu 94 °C selama 7 menit kemudian diikuti dengan 35 siklus yang terdiri dari 96 °C selama 50 detik (denaturasi), 50 °C selama 40 detik (*annealing*), dan 72 °C selama 1 menit (ekstensi) dan diikuti dengan ekstensi akhir pada suhu 72 °C selama 10 menit. Produk hasil PCR divisualisasikan dalam 1.5 % gel agarose kemudian dilakukan elektroforesis pada voltase 100 selama 60 menit. Pita DNA yang terbentuk diamati dengan bantuan *UV Transilluminator* panjang gelombang 360 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel urin yang mengandung *E.coli* dipilih karena merupakan sampel yang paling banyak terkumpul dan positif memproduksi ESBLs. Hal ini sesuai dengan penelitian di tahun 2005 dan tahun 2011 dimana sampel ini menduduki presentase tertinggi yang terkumpul yakni masing-masing sebanyak 67.1% (Severin *et al*, 2010) dan 26.5 % (Kuntaman *et al*, 2011). Beberapa negara juga ditemukan hal yang

serupa dimana *E.coli* penghasil ESBLs ditemukan sebesar 63% di Thailand (Kiratisin *et al*, 2008) dan 89% di Spanyol (Sorlozano *et al*, 2007). *Escherichia coli* penghasil ESBLs menyebabkan pilihan antibiotik menjadi semakin terbatas terutama untuk individu usia lanjut dan *immunocompromised* (Ferreira *et al*, 2011). Pada media *Muller-Hinton Agar* ditambahkan antibiotik ampicilin untuk menstimulor gen penghasil ESBLs, dimana umumnya gen ini terdapat pada plasmid terutama plasmid R (Pratiwi, 2008).

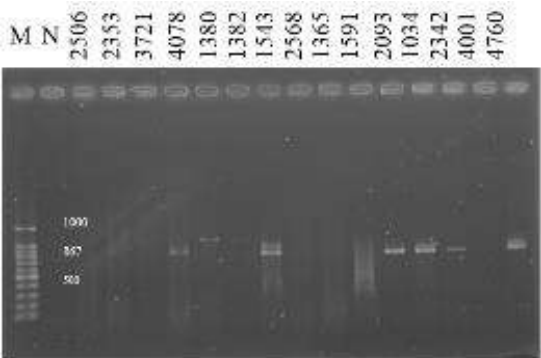
Ruang Interna (Tabel 1) ditemukan paling banyak isolat klinik *E.coli* penghasil ESBLs yakni sebanyak 11 isolat dan berbeda dengan ruangan lain yang hanya ditemukan sebanyak 1 sampai 5 isolat. Hal ini dapat disebabkan perbedaan penggunaan antibiotik yang berbeda pada masing-masing ruang perawatan tersebut. Penggunaan antibiotik sefalosporin generasi ketiga, antibiotik golongan beta laktam, dan fluoroquinolon di rumah sakit diduga menjadi salah satu faktor resiko munculnya bakteri penghasil ESBLs. Selain itu, penggunaan antibiotik yang kurang bijak pada komunitas juga turut menyumbangkan penyebab penyebaran kuman ESBLs menjadi meningkat (Adelyap *et al*, 2011).

Hasil amplifikasi PCR gen TEM (Gambar 1) dengan ampikon sebesar 867 bp menunjukkan bahwa sebanyak 10 isolat (30%) positif mengandung gen TEM. Penelitian Severin *et al* (2010) di RSUD Dr. Soetomo Surabaya menunjukkan bahwa tidak ditemukan satupun isolat yang mengandung gen TEM. Distribusi ruangan (Tabel 1) ditemukan gen TEM paling banyak ditemukan di Ruang Interna. Penelitian di India juga menunjukkan hasil yang tidak terlalu jauh yakni sebanyak 38% *E.coli* yang membawa gen TEM (Sharma *et al*, 2010), sedangkan di Thailand ditemukan cukup tinggi yaitu sebesar 77% (Kiratisin *et al*, 2008). Keberadaan gen TEM yang sebelumnya tidak ditemukan pada penelitian

sebelumnya dapat disebabkan oleh lingkungan luar (infeksi komunitas) dimana pasien yang terinfeksi *E.coli* penghasil ESBLs yang dikode gen TEM telah menyebarkannya di lingkungan rumah sakit (infeksi nosokomial). Hal ini didukung oleh penelitian Karoglu *et al* (2007) yang berhasil mengisolasi 51 isolat *E.coli* dari sumber mata air Turki, dimana 11% mengandung gen TEM.

Tabel 1. Distribusi Keberadaan Gen TEM pada Isolat Klinis *E.coli* Penghasil ESBLs di beberapa ruang RSUD Dr. Soetomo Surabaya

| Ruang Asal Isolat | Jumlah Isolat | Gen TEM (%) |
|-------------------|---------------|-------------|
| Interna | 13 | 6 |
| Anak | 4 | - |
| IRJ | 5 | 1 |
| Bedah | 1 | - |
| Paru | 4 | 1 |
| Jiwa | 1 | - |
| Kulit | 1 | 1 |
| Saraf | 1 | 1 |



| | | |
|--------------|-----------|-----------------|
| TOTAL | 30 | 10 (30%) |
|--------------|-----------|-----------------|

Gambar 1. Hasil amplifikasi PCR *E.coli* dengan amplikon sebesar 867 bp. N merupakan kontrol negatif. M merupakan marker.

Kuman ESBLs tipe TEM banyak ditemukan pada mikroflora normal usus, dimana hal ini dilakukan oleh bakteri anaerob fakultatif sebagai strategi untuk mempertahankan diri dari pemberian antibiotik golongan beta lactam yang diberikan secara per oral (Heritage *et al*, 2001).

Sebanyak dua puluh isolat *E.coli* penghasil ESBLs yang tidak membawa gen TEM bukan berarti tidak memproduksi ESBLs. Ada 700 tipe ESBLs yang diklasifikasikan kedalam empat grup yakni Grup 1, Grup 2 (2a-2f), Grup 3 dan Grup 4 (Bush & Jacoby, 2010), sehingga dimungkinkan bakteri yang tidak membawa gen TEM, membawa gen lain seperti gen OXA, PER, GES, CTX-M, atau SHV (Sana *et al*, 2010). Oleh sebab itu, pemeriksaan pasien dengan infeksi bakteri penghasil ESBLs tidak hanya dilakukan secara fenotipik tetapi secara genotipik penting untuk dilakukan. Tipe gen yang memproduksi ESBLs yang berbeda juga membutuhkan terapi antibiotik yang berbeda pula.

KESIMPULAN

Pemeriksaan secara genotipik terhadap *E.coli* penghasil ESBLs menunjukkan bahwa sebanyak 30% (10/30) isolat positif membawa gen TEM, yang pada penelitian sebelumnya belum pernah ditemukan. Ruang Interna ditemukan paling banyak *E.coli* penghasil ESBLs tipe TEM yakni sebanyak enam isolat.

DAFTAR PUSTAKA

Adelyap, M.A., Harbart, S., Vernaz, N., Kearney, M.P., Scott, M.G., Elhajji, F.W.D., Aldiab, M.A and McElnay, J.C. 2011. The impact of antibiotic use on the incidence and resistance pattern of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in primary and secondary healthcare settings. *British Journal of Clinical Pharmacology*. DOI:10.1111/1365-2125.

Bush, K. & Jacoby, G. A. 2010. Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 54: 969-976.

Chaudary, U. 2004. *Review Article: Extended Spectrum beta lactamase-an Emerging Threat to Clinical Therapeutics*. <http://www.ijmm.org/article.asp?issn=>

- 02550587;year=2004;volume=22;issue=2;spage=75;epage=80;aulast=Chaudary [26 Juli 2017].
- Colodner, R. 2013. *Extended-Spectrum Beta-Lactamases: The End of Cephalosporins*; downloaded at <http://www.ima.org.il/imag/ar05may-13.pdf>. [28 Juli 2017].
- Ferreira, C.M., Ferreira, W. A., Almeida, N.O., Gomes, F., Naveca, and Barbosa, M.G. 2011. Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Bacteria Isolated From Hematologic Patients In Manaus, State Of Amazonas, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 42: 1076-1084.
- Hefferman, H.M., Woodhouse, R.E, Pope, C.E., and Blackmore, T.K. 2009. Prevalence and types of extended-spectrum beta lactamase among urinary *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in New Zealand. *Int.J.Antimicrob Agents*. 34(6): 544-549.
- Heritage, J., Ransom, N., Chamber, P.A., and Wilcox, M.H. 2001. A comparison of culture a PCR to determine the prevalence of ampicillin-resistant bacteria in the faecal oral of general practice patients. *Journal of Antimicrobial Chemoteraphy*. 48: 287-289.
- Jan, N., Sudhir, U., and Archana K. 2009. Plasmid profile analysis of multidrug resistant *E.coli* isolated from UTI patients of Nagpur City, India. *Romanian Biotechnological Letters*. 14 (5): 4635-4640.
- Karoglu, S.A., Ozgumus, O.B., Sevim, E., Koylaili, F., Sevim, A., and Yesilgil, P. 2007. Investigation of antibiotic resistance profil and TEM-type beta lactamases gene carriage of ampicillin resistant *Esherichia coli* strain isolated from drinking water. *Annals of Mircrobiology*. 57(2): 281-288.
- Kiratisin, P., Apisarnthanarak, A., Laesripa, C., and Saifon, P. 2008. Molecular characterization and epidemiology of extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates causing health care-associated infection in Thailand, where the CTX-M family is endemic. *Antimicrob Agents Chemother*.52:2818-2824.
- Kuntaman, K., Santoso, S., Wahjono, H., Mertaningsih, N.M., Lestrasi, E.S., Farida, H., Hapsari, R., Firmanti, S.C., Noorhamdani, A.S., Santosaningsih, D., Purwono, P.B., and Kusumaningrum, D. 2011. The sensitivity pattern of extended spectrum beta lactamase-producing bacteria against six antibiotics that routinely used in clinical setting. *J. Indon Med Assoc*. 61(12): 482-486.
- Miranda, P.R. Davide, M.G., and Peter, J.C. 2004. Evolution of multi-resistance plasmid in Australian clinical isolates of *Escherichia coli*. *Microbiology*. 150: 1539-1546.
- Oduruch-Mensah, D., Obeng-Nkrumah, N., Bonney, E.Y., Oduro-Mensah, E., Twum-Damsi, K., Osei, Y.D., and Sackey, S.T. 2016. Genetic characterization of TEM-type ESBL-associated antibacterial resistance in Enterobacteriaceae in a tertiary hospital in Ghana. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 15:29.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Penerbit Erlangga. Jakarta
- Russo, T.A and Johnson, J.R. 2003. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: focus on an increasingly important endemic problem. *Microbes infect*. 5: 449-456
- Sana, T., Rami, K., Racha, B., Fouad, D., Marcel, A., Hasan, M., Sani, H., and Mozer, H. 2011. Detection of genes TEM, OXA, SHV, and CTX-M in 73 clinical isolates of *Esherichia coli* producers of extended spectrum beta lactamases and determination of their

susceptibility to antibiotics. *iMedPub Journal*. 1(1):1-5.

Severin, J.A., Mertaningsih, N.M., Kuntaman, K., Lestari, E.S., Purwanta, M., Toom, N.L., Duerink, D.O., Hadi, U., Belkum, A., Verbrugh, H.A. and Goessens, W.H. 2010. Molecular characterization of extended-spectrum β -lactamases in clinical *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Surabaya, Indonesia. *J. Antimicrob Chemother.* 65: 465-469

Sharma, J., Sharma, M and Ray, P. 2010. Detection of TEM & SHV genes in *Escherichia coli* & *Klebsiella pneumoniae* isolates in a tertiary care hospital from India. *Indian J Med Res.* 132: 332-336.

Sorlozano, A., Guteirrez, J., Luna, J.D., Oteo, J., Liebena, J., Soto, M.J., and Piedrola, G. 2007. High presence of extended-spectrum β -lactamases and resistance to quinolones in clinical isolates of *Escherichia coli*. *Microbiological Research.* 162: 347-354.

“Halaman Sengaja dikosongkan”

