

# Bio**medika**

Volume 13, No. 1, Februari 2021

**Pengaruh Kombinasi Vitamin Oral B1, B6 dan B12 Terhadap Waktu Reaksi Pada Subjek Dewasa Muda Yang Sehat: Studi Acak Terkendali**  
Imaniar Ranti, Ikhlas Muhammad Jenie

**Dampak Pemberian Juice Buah Naga Merah Pada Perubahan Kardiorespirasi Dalam Aktivitas Fisik Maksimum**  
Hafiz Anugrah Mursyid, Gusbakti Rusip

**Gambaran Pengetahuan Mahasiswa Non Fakultas Kesehatan Tentang Gingivitis**  
Ana Riolina, Ghinna Yulia Indarti

**Coklat Hitam Menurunkan Nyeri Dismenore**  
Sri Wahtini, Fristyaningrum Hidayah, Evi Wahyuntari

**Aktivitas Antibakteri *Lactobacillus paracasei* Asal Air Susu Ibu (ASI) Terhadap Bakteri Patogen**  
Nosa Septiana Anindita

**Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Endofit Asal Akar Ciplukan (*Physalis angulata L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***  
Ika Afifah Nugraheni, Heni Setianah, Doddy Sulistiawan Wibowo

**Isolasi Dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Dari Blondo Virgin Coconut Oil Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus***  
Burhannuddin Rasyid, Ketut Meina Sandi, I Gede Sudarmanto, I Wayan Karta

**Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) Terhadap Mortalitas Larva *Anopheles aconitus***  
Nurhayani, Dhiastika Nanda Sari, Rochmadina Suci Bestari, Erika Diana Risanti

**Analisis Kromatografi Lapis Tipis (Klt) Dan Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas (Prb) Ekstrak Etanol Lempuyang Emprit (*Zingiber americanus*) Hasil Maserasi Sekali Dan Maserasi Berulang**  
Susi Indah Lestari, Broto Santoso

**Diabetes Melitus Sebagai Faktor Risiko Keparahan Dan Kematian Pasien COVID-19: Meta-Analisis**  
Nining Lestari, Burhannudin Ichsan

**Penyakit Fahr's Dengan Kejang Pada Pasien Karsinoma Tiroid: Sebuah Laporan Kasus**  
Iwan Setiawan, Sulistiyani Sulistyani

ISSN 2085-8345

# Biomedika

Volume 13, No. 1, Februari 2021

## **TIM PENYUSUN**

### **Pemimpin Redaksi**

Prof. Dr. dr. Em Sutrisna, M.Kes

### **Dewan Redaksi**

Prof. Dr. H. Gusbakti Rusip, M.Sc.,PKK,AIFM

Juliani Ibrahim, M.Sc., Ph.D

dr. Tonang Dwi Ardyanto, Sp.PK., Ph.D

dr. Erika Diana Risanti, M.Sc

dr. Nur Mahmudah, M.Sc

### **Editor Bagian**

dr. Safari Wahyu Jatmiko, M.Si.Ed.

dr. Anika Candrasari, M.Kes

dr. Budi Hernawan, M.Sc

### **Redaktur Pelaksana**

Restu Febriantura

### **Alamat Redaksi**

Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta

Kampus IV Universitas Muhammadiyah Surakarta

Jalan Garuda Mas, Gonilan, Kartasura, Surakarta

Email: [biomedika@ums.ac.id](mailto:biomedika@ums.ac.id)

Website: <http://journals.ums.ac.id/index.php/biomedika>

## DAFTAR ISI

### Artikel:

- Pengaruh Kombinasi Vitamin Oral B1, B6 dan B12 Terhadap Waktu Reaksi Pada Subjek Dewasa Muda Yang Sehat: Studi Acak Terkendali**  
Imaniar Ranti, Ikhlas Muhammad Jenie  
1-11
- Dampak Pemberian Juice Buah Naga Merah Pada Perubahan Kardiorespirasi Dalam Aktivitas Fisik Maksimum**  
Hafiz Anugrah Mursyid, Gusbakti Rusip  
12-18
- Gambaran Pengetahuan Mahasiswa Non Fakultas Kesehatan Tentang Gingivitis**  
Ana Riolina, Ghinna Yulia Indarti  
19-27
- Coklat Hitam Menurunkan Nyeri Dismenore**  
Sri Wahtini, Fristyaningrum Hidayah, Evi Wahyuntari  
28-35
- Aktivitas Antibakteri *Lactobacillus paracasei* Asal Air Susu Ibu (ASI) Terhadap Bakteri Patogen**  
Nosa Septiana Anindita  
36-47
- Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Endofit Asal Akar Ciplukan (*Physalis angulata L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***  
Ika Afifah Nugraheni, Heni Setianah, Doddy Sulistiawan Wibowo  
48-55
- Isolasi Dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Dari Blondo Virgin Coconut Oil Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus***  
Burhannuddin Rasyid, Ketut Meina Sandi, I Gede Sudarmanto, I Wayan Karta  
56-67
- Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) Terhadap Mortalitas *Larva anopheles aconitus***  
Nurhayani, Dhiastika Nanda Sari, Rochmadina Suci Bestari, Erika Diana Risanti  
68-75
- Analisis Kromatografi Lapis Tipis (Klt) Dan Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas (Prb) Ekstrak Etanol Lempuyang Emprit (*Zingiber americans*) Hasil Maserasi Sekali Dan Maserasi Berulang**  
Susni Indah Lestari, Broto Santoso  
76-82

**Diabetes Melitus Sebagai Faktor Risiko Keparahan Dan Kematian Pasien COVID-19: Meta-Analysis**

Nining Lestari, Burhannudin Ichsan

**83-94**

**Laporan Kasus:**

**Penyakit Fahr's Dengan Kejang Pada Pasien Karsinoma Tiroid: Sebuah Laporan Kasus**

Iwan Setiawan, Sulistiyani Sulistyani

**95-100**

# PENGARUH KOMBINASI VITAMIN ORAL B1, B6 DAN B12 TERHADAP WAKTU REAKSI PADA SUBJEK DEWASA MUDA YANG SEHAT: STUDI ACAK TERKENDALI

*THE EFFECT OF ORAL VITAMINS COMBINATION B1, B6 AND B12 ON THE REACTION TIME IN HEALTHY YOUNG ADULT SUBJECTS: RANDOMIZED CONTROL TRIAL STUDY*

Imaniar Ranti<sup>1</sup>, Ikhlas Muhammad Jenie<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

<sup>2</sup>Bagian Fisiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta  
Korespondensi: Dr. dr. Ikhlas Muhammad Jenie, M.Med.Sc. Email: [ikhlas.muhammad@umy.ac.id](mailto:ikhlas.muhammad@umy.ac.id)

## ABSTRAK

Waktu reaksi adalah waktu yang diperlukan oleh makhluk hidup untuk berespon secara sengaja terhadap stimulus yang diberikan. Waktu reaksi ini mampu menunjukkan kemampuan koordinasi sistem saraf motorik dan sensorik. Waktu reaksi akan menurun saat terjadi penurunan fungsi sistem saraf. Salah satu vitamin yang dapat menjaga fungsi saraf adalah kombinasi vitamin oral B1, B6 dan B12. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efek pemberian vitamin oral B1, B6, dan B12 terhadap waktu reaksi. Desain penelitian menggunakan uji acak terkendali double blind. Subyek sebanyak 20 orang laki-laki dan perempuan usia 18-20 tahun, yang terbagi secara acak 10 orang sebagai kelompok intervensi dan 10 orang sebagai kelompok kontrol. Kombinasi vitamin oral B1 100 mg, B6 200 mg dan B12 200 mcg diberikan dalam bentuk kapsul dan diminum satu kali sehari selama 14 hari. Subyek kelompok kontrol diberi kapsul yang berisi amylum lactose sebagai plasebo. Pada hari ke-14, dilakukan pengukuran waktu reaksi sederhana dan waktu reaksi pilihan menggunakan alat pengukur kecepatan respon. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna waktu reaksi sederhana dan waktu reaksi pilihan antara kelompok intervensi dan kelompok kontrol. Akan tetapi, pada sub analisis berdasarkan gender, subyek perempuan kelompok intervensi mempunyai waktu reaksi pilihan yang lebih cepat dibandingkan kontrol.

**Kata Kunci:** Waktu Reaksi, Kombinasi Vitamin Oral B1, B6, B12, Uji Acak Terkendali

## ABSTRACT

Reaction time is the time it takes for organisme to respond the given stimulus voluntarily. This reaction time is a good indicator of sensorimotor nervous system coordination. The reaction time will decrease when there is a decrease in nervous system function. One of the vitamins that can maintain nerve function is an combination of oral vitamins B1, B6 and B12. This study aimed to examine the effect of oral vitamins B1, B6, and B12 on reaction time. The study design used a double blind randomized controlled trial. Subjects were 20 men and women aged 18-20 years, which were randomly divided 10 people as the intervention group and 10 people as the control group. The combination of oral vitamins B1 100 mg, B6 200 mg and B12 200 mcg were given in capsule form and taken once a day for 14 days. The control group subjects were given a capsule containing amylum lactose as a placebo. On day 14<sup>th</sup>, a simple and selected reaction time was measured using a response velocity measuring device. The results of this study indicate that there were no significant difference in simple and selected reaction time between the intervention group and the control group. In a further analysis stratified by gender, female subjects in the intervention group had a faster selected reaction time than controls.

**Keywords:** Reaction Time, Oral Vitamin B1, B6, B12, Randomized Controlled Trial

**How To Cite:** Ranti, I., & Jenie, I. (2021). PENGARUH KOMBINASI VITAMIN ORAL B1, B6 DAN B12 TERHADAP WAKTU REAKSI PADA SUBJEK DEWASA MUDA YANG SEHAT: STUDI ACAK TERKENDALI. *Biomedika*, 13(1), 1-11. doi:<https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.9883>

**DOI:** <https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.9883>

## PENDAHULUAN

Salah satu ciri makhluk hidup adalah kemampuannya untuk merespon stimulus. Kemampuan tersebut mencerminkan fungsi beberapa sistem dalam tubuh, terutama sistem saraf. Aspek yang dinilai dalam kemampuan berespon tersebut adalah kecepatan dan ketepatan respon (Vishteh *et al.*, 2019).

Waktu yang diperlukan oleh makhluk hidup untuk secara sengaja (*voluntarily*) memberikan respon yang sesuai terhadap stimulus yang diberikan disebut dengan waktu reaksi. Waktu reaksi menunjukkan waktu yang diperlukan oleh korteks serebri untuk menyadari adanya stimulus dan menjalankan proses mental yang sesuai (*perception time*) (Reigal *et al.*, 2019).

Beberapa penelitian yang mengamati perubahan waktu reaksi telah banyak dilakukan, antara lain Muley *et al.* (2016) yang menilai dampak stres terhadap waktu reaksi pada mahasiswa kedokteran. Waktu reaksi pilihan digunakan untuk mengevaluasi kinerja kognitif mahasiswa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa stres ujian memperpanjang waktu reaksi visual dan auditori.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Cariappa & Mohanraj (2018) juga menunjukkan

bahwa stres ujian akan mempengaruhi fungsi kognitif, dengan hasil penelitiannya menunjukkan pada mahasiswa kedokteran laki-laki memiliki waktu reaksi yang lebih cepat dibandingkan dengan mahasiswa kedokteran perempuan untuk rangsangan pendengaran dan visual.

Dari penelitian Jain *et al.* (2015) diketahui ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi waktu reaksi antara usia, jenis kelamin, penggunaan dominan tangan kiri atau kanan, penglihatan pusat versus perifer, latihan, tingkat kelelahan, puasa, siklus pernapasan, tipe kepribadian, olahraga, dan kecerdasan seseorang. Pada penelitian tersebut didapatkan hasil mahasiswa kedokteran laki-laki memiliki waktu reaksi yang lebih cepat dibandingkan dengan mahasiswa kedokteran perempuan untuk rangsangan pendengaran dan visual. Mahasiswa kedokteran yang berolahraga secara teratur juga memiliki waktu reaksi yang lebih cepat jika dibandingkan dengan mahasiswa kedokteran yang kurang aktif bergerak.

Salah satu vitamin yang diketahui memiliki fungsi menjaga sistem kesehatan sistem saraf adalah vitamin B. Vitamin B diperlukan oleh tubuh sebagai koenzim dalam glikolisis serta siklus asam sitrat. Vitamin B1,

B6, dan B12 juga diketahui mampu meningkatkan fungsi untuk perbaikan / sintesis RNA/DNA, produksi energi, metilasi genomik dan non genomik, serta sintesis berbagai zat kimia untuk sistem saraf. Oleh karena itu, pemenuhan kebutuhan vitamin B perlu diperhatikan agar tidak terjadi defisiensi vitamin B yang dapat menimbulkan berbagai manifestasi kelainan sistem saraf (Calderón-Ospina and Nava-Mesa, 2020; Kennedy, 2016).

Dari berbagai penjelasan tersebut maka penelitian bertujuan untuk mengkaji efek pemberian vitamin B1, B6, dan B12 terhadap waktu reaksi pada mahasiswa kedokteran.

## METODE

Penelitian ini mengkaji pengaruh kombinasi vitamin B1, B6, dan B12 terhadap waktu reaksi, dilakukan uji acak terkendali, buta ganda dan *post-test only*. Penelitian ini telah mendapatkan surat persetujuan etik dari KEPK FK UMS No. 3030/B.1/KEPK-FKUMS/IX/2020

Sampel penelitian mahasiswa Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta (FKIK UMY) yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi meliputi usia, antara 20 – 30 tahun, indeks masa tubuh 20,7 – 26,4 kg/m<sup>2</sup> bagi

subyek laki-laki dan 19,1 – 25,8 kg/m<sup>2</sup> bagi subyek perempuan, serta dalam kondisi sehat pada saat menjalani penelitian. Indeks massa tubuh (IMT) dihitung dengan rumus:  $IMT = \frac{\text{berat badan (kg)}}{\text{tinggi badan}^2 (\text{m}^2)}$ . Kriteria eksklusi yang digunakan meliputi bukan perokok, bukan pengonsumsi alkohol, dan tidak menderita penyakit saraf, berdasarkan kuesioner. Kriteria eksklusi yang lain adalah tidak kidal, tidak buta warna berdasarkan tes buta warna dengan menggunakan buku Ishihara, tidak ada gangguan pendengaran berdasarkan tes fungsi pendengaran dengan menggunakan garpu tala, dan tidak dalam keadaan cemas berdasarkan *Analog Anxiety Scale (AAS)* yang merupakan modifikasi *Hamilton Rating Scale for Anxiety (HRSA)* (Ramdan, 2019; Moussa, 2020; Kurniasari *et al.*, 2016). Sebanyak 20 orang mahasiswa FKIK UMY yang terdiri dari 10 orang mahasiswa perempuan dan 10 orang mahasiswa laki-laki, yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi serta bersedia mengikuti penelitian ini. Setelah mendapatkan penerangan yang layak mengenai topik, jalannya, dan risiko penelitian, subyek penelitian menandatangani *informed consent*.

Protokol penelitian adalah sebagai berikut: secara random, subyek penelitian dibagi

menjadi dua kelompok, yaitu kelompok intervensi dan kontrol, dengan mempertimbangkan perbandingan jenis kelamin 1:1 untuk tiap kelompok. Kelompok intervensi mendapatkan empat belas buah kapsul yang berisi kombinasi vitamin B1 100 mg, B6 200 mg dan B12 200 mcg, sedangkan kelompok kontrol mendapatkan empat belas buah kapsul plasebo (*Amylum lactose*). Kedua jenis kapsul tersebut disiapkan oleh farmasis dan serupa dalam bentuk, warna dan berat kasarnya. Obat tersebut harus diminum oleh tiap subyek dalam tiap kelompok yang sesuai, satu kapsul tiap hari selama empat belas hari. Baik subyek penelitian ataupun peneliti tidak mengetahui jenis obat yang diminum oleh tiap subyek penelitian (buta ganda atau *double blind*) sampai dengan akhir penelitian.

Pada hari terakhir minum obat (hari ke-14) dilakukan pengukuran waktu reaksi dengan menggunakan alat pengukur kecepatan respon yang telah melalui uji validitas dan reliabilitas. Cara kerja alat tersebut adalah dimulai dengan menekan tombol "On" untuk menghidupkan. Setelah Alat Pengukur Kecepatan Respon aktif, penguji duduk di belakang alat tersebut dan siap memberikan stimulus, sedangkan subyek penelitian duduk di

depan alat tersebut dengan tangan siap berada di atas di antara tombol "Off" buzer dan lampu. Penguji memberikan salah satu di antara dua stimulus, yaitu cahaya atau suara, tanpa diketahui oleh subyek penelitian. Apabila penguji memberikan stimulus cahaya maka lampu akan menyala, sedangkan apabila penguji memberikan stimulus suara maka buzer akan mengeluarkan bunyi. Setelah penguji mengaktifkan salah satu stimulus, maka subyek harus dengan cepat menjawab stimulus tersebut dengan menekan tombol "Off" yang sesuai dengan stimulus yang diberikan. Apabila subyek dapat menjawab stimulus dengan respon yang sesuai dan dalam waktu sama dengan atau kurang dari satu detik maka papan *display* akan menampilkan waktu reaksi subyek tersebut. Akan tetapi, apabila subyek menjawab stimulus dengan respon yang tidak sesuai atau dalam waktu lebih lama dari satu detik maka papan *display* tidak akan menampilkan waktu reaksi subyek tersebut dan akan menunjukkan tampilan "Error". Waktu reaksi yang dapat diukur dengan menggunakan Alat Pengukur Kecepatan Respon adalah waktu reaksi sederhana terhadap stimulus cahaya, waktu reaksi sederhana terhadap stimulus suara, dan waktu reaksi pilihan terhadap stimulus cahaya atau suara.

Sebagai persiapan pengukuran waktu reaksi, paling tidak 1-2 jam sebelumnya, subyek tidak makan makanan berat, minum minuman yang mengandung teh dan kopi, serta menghindari olah raga. Sebelum pengukuran dimulai, subyek diberi kesempatan untuk latihan sebanyak tiga kali. Pengukuran dilakukan untuk waktu reaksi sederhana terhadap cahaya, waktu reaksi sederhana terhadap suara, dan waktu reaksi pilihan antara stimulus cahaya dan suara, dengan jeda 15 detik. Pada pengukuran waktu reaksi sederhana, masing-masing stimulus cahaya dan suara diberikan sebanyak sepuluh kali, sedangkan pada pengukuran waktu reaksi pilihan stimulus cahaya dan suara diberikan secara setimbang bergantian sehingga mencapai total sepuluh kali. Waktu reaksi subyek akan terpampang pada papan *display* sehingga dapat dicatat. Apabila papan *display* menunjukkan "Error" maka pengukuran diulang. Pengambilan sepuluh pengukuran waktu reaksi adalah cukup, meskipun minimum (Kosinski, 2010). Jadi setelah pengukuran didapatkan rata-rata waktu reaksi sederhana terhadap stimulus cahaya, rata-rata waktu reaksi sederhana terhadap stimulus suara, dan rata-rata waktu reaksi pilihan untuk masing-masing subyek. Pada akhir pengukuran, status grup subyek

penelitian dibuka untuk diketahui oleh subyek dan peneliti (*disclosure*).

Data dikelola dengan menggunakan program Excell 2003 dan diolah dengan menggunakan SPSS versi 13.0 (SPSS Inc., Chicago, USA). Tes normalisasi data dengan menggunakan Uji Kolmogorov-Smirnov. Hasil data yang terdistribusi normal ditampilkan berupa rerata  $\pm$  simpang baku, sedangkan untuk data terdistribusi tidak normal, hasil ditampilkan berupa median dengan kisaran inter-kuartil. Guna mengetahui perbedaan bermakna dalam hal waktu reaksi antara kelompok intervensi dan kontrol, penelitian ini menggunakan Uji t untuk dua variabel yang tidak berkaitan (*independent T-test*) untuk data yang terdistribusi normal dan Uji Mann-Whitney untuk data yang terdistribusi tidak normal.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Subyek Penelitian

Karakteristik pada seluruh subjek pada penelitian ini tidak memiliki perbedaan yang bermakna dalam hal usia, indeks masa tubuh, dan skor kecemasan (Tabel 1).

Tabel 1  
Karakteristik subyek penelitian

Karakteristik	Kelompok intervensi	Kelompok kontrol
Jenis kelamin	♂5 dan ♀5	♂5 dan ♀5
Rerata usia (tahun)	21 (20-22)	21 (20-22)

IMT (kg/m <sup>2</sup> )	21,82 (2,1)	21,78 (2,7)
Skor kecemasan	20 (0 – 40)	5 (0 – 50)

Keterangan. IMT = indeks masa tubuh. Data dengan distribusi normal ditampilkan berupa rerata (simpang baku). Data dengan distribusi tidak normal ditampilkan berupa median (kuartil bawah – kuartil atas).

Pada penelitian ini didapatkan skor kecemasan yang diukur dengan menggunakan kuesioner *Analog Anxiety Scale* (AAS) adalah kurang dari 150, sehingga diinterpretasikan sebagai tidak cemas.

Penelitian ini mendapatkan bahwa subyek perempuan, namun tidak subyek laki-laki, yang mendapat kombinasi vitamin oral B1, B6, dan B12 mempunyai waktu reaksi pilihan yang secara bermakna lebih cepat daripada kelompok kontrol (lihat tabel 3 dan tabel 4). Hal ini dimungkinkan karena adanya pengaruh pemberian vitamin B1, B6, dan B12 yang mampu mengoptimalkan kerja sel-sel saraf. Vitamin B1 (tiamin) terlibat dalam metabolisme karbohidrat, yang merupakan sumber energi sel-sel saraf. Defisiensi vitamin B1 terkait dengan gejala-gejala neurologik, seperti polineuritis dan encephalopati. Vitamin B6 (piridoksin) dapat menurunkan kadar beberapa neurotransmitter, seperti neurotransmitter penghambat gamma-aminobutyric acid (GABA) serta diperlukan dalam proses mielinisasi. Kebutuhan sel-sel

saraf terhadap vitamin B12 (kobalamin) terbukti ketika terjadi defisiensi vitamin B12 timbul kerusakan irreversibel sel-sel saraf (Calderón-Ospina and Nava-Mesa, 2020; Kennedy, 2016; Nawaz *et al.*, 2020).

### **Pengaruh Kombinasi Vitamin B1, B6, dan B12 per Oral terhadap Waktu Reaksi**

Hasil penelitian setelah dilakukan pengukuran waktu reaksi didapatkan bahwa kelompok intervensi dan kelompok kontrol tidak berbeda bermakna dalam hal waktu reaksi sederhana, baik terhadap stimulus cahaya ataupun suara. Subyek kelompok intervensi mempunyai waktu reaksi pilihan yang lebih cepat daripada subyek kelompok kontrol, tetapi perbedaan tersebut tidak bermakna secara statistik (tabel 2).

**Tabel 2**  
**Perbandingan Waktu Reaksi**

Jenis Waktu reaksi	Kelompok intervensi (n = 10)	Kelompok kontrol (n = 10)	Nilai p
Sederhana stimulus cahaya	356,53 ± 58,6	350,64 ± 87,9	0,86
Sederhana stimulus suara	330,71 ± 52,0	328,30 ± 81,2	0,94
Pilihan	377,65 ± 39,1	403,71 ± 76,7	0,36

Keterangan. Data ditampilkan berupa rerata (simpang baku). Data waktu reaksi ditampilkan dengan satuan milidetik.

Pada penelitian ini juga didapatkan bahwa kecepatan waktu reaksi akan lebih cepat pada pemberian stimulus suara dibandingkan pada pemberian stimulus cahaya pada seluruh

kelompok subjek, walaupun tidak berbeda bermakna (tabel 2). Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Jain *et al.* (2015) yang juga menyatakan bahwa waktu reaksi auditori pada 120 mahasiswa kedokteran lebih cepat daripada waktu reaksi visual. Kecepatan waktu reaksi pada pemberian rangsang suara dipengaruhi oleh kecepatan konduksi suara pada korteks motorik dan kecepatan proses pada korteks auditorik sehingga akan mempengaruhi kecepatan kontraksi otot untuk bereaksi (Shelton *and* Kumar, 2010). Penelitian Thompson *et al.* (1992) telah melaporkan bahwa waktu reaksi rata-rata untuk mendeteksi rangsangan visual adalah sekitar 180-200 milidetik, sedangkan waktu reaksi untuk mendeteksi rangsangan suara sekitar 140-160 milidetik. Diketahui pula bahwa stimulus pendengaran hanya membutuhkan waktu 8-10 milidetik untuk masuk ke otak sedangkan stimulus visual membutuhkan waktu 20-40 milidetik (Kemp, 1973).

Penelitian ini mendapatkan bahwa rata-rata waktu reaksi pilihan pada subyek laki-laki dan perempuan kelompok kontrol adalah 403,7 milidetik, sedangkan rata-rata waktu reaksi sederhana adalah 350,6 milidetik untuk stimulus cahaya dan 328,3 milidetik untuk stimulus suara. Penelitian lain juga

menyebutkan bahwa waktu reaksi pilihan lebih lambat dibandingkan dengan waktu reaksi visual (Wadoo *and* Syeed, 2019). Henry *and* Rogers (1960) dalam hasil penelitiannya juga menyebutkan bahwa respon dari adanya stimulus yang kompleks memerlukan proses penyimpanan informasi yang lebih banyak dengan waktu yang lebih lama. Mereka menyebutnya sebagai teori "memory drum".

Karakteristik subyek dalam penelitian ini antara lain adalah usia, jenis kelamin, tingkat kecemasan, dan tingkat kebugaran. Dilaporkan bahwa waktu reaksi memanjang seiring dengan penambahan usia. Dilaporkan juga bahwa waktu reaksi memanjang apabila subyek dalam keadaan cemas, namun sebaliknya, akan memendek, atau menjadi lebih cepat, apabila subyek dalam keadaan bugar (Kosinski, 2010).

Pada penelitian ini, subyek laki-laki dan perempuan sehat (pada kelompok kontrol) tidak berbeda secara bermakna dalam hal waktu reaksi sederhana, baik terhadap stimulus cahaya ataupun suara. Namun, subyek laki-laki mempunyai waktu reaksi pilihan yang secara bermakna lebih cepat daripada daripada subyek perempuan ( $p= 0,01$ ) (tabel 3 dan 4). Hal ini sesuai dengan Der *and* Deary (2006) yang mendapatkan bahwa jenis kelamin berpengaruh

terhadap waktu reaksi pilihan namun tidak terhadap waktu reaksi sederhana. Silverman (2006) melakukan studi meta analisis terhadap 21 buah penelitian mengenai waktu reaksi, mendapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara laki-laki dan perempuan dalam hal waktu reaksi sederhana terhadap cahaya. Namun sayangnya, Guan *et al.* (2006) melaporkan bahwa tidak terdapat pengaruh jenis kelamin terhadap waktu reaksi pilihan.

Berdasarkan kerja Weiss pada tahun 1965 dengan menggunakan elektromiografi (EMG), waktu reaksi mempunyai komponen *pre-motor time* (PMT) dan *motor time* (MT). PMT menunjukkan waktu yang diperlukan oleh pusat, yaitu korteks serebri, sedangkan MT menunjukkan waktu yang diperlukan oleh perifer, yaitu unit motorik, dalam mengolah informasi untuk lahirnya gerakan sebagai respon yang sesuai terhadap stimulus yang diberikan (Guan *et al.*, 2006). Laki-laki mempunyai waktu reaksi yang lebih cepat daripada perempuan karena laki-laki memiliki PMT yang lebih singkat daripada perempuan. Dengan demikian, laki-laki mampu memproses informasi di korteks serebri jauh lebih cepat daripada perempuan. Telah dilaporkan beberapa perbedaan struktur otak antara laki-laki dan

perempuan, antara lain laki-laki memiliki sel-sel saraf yang lebih padat serta sinap yang lebih banyak daripada perempuan (Defelipe *and* Alonso-Nanclares, 2013).

### Pengaruh Gender

Hasil analisis bertingkat berdasarkan gender didapatkan bahwa subyek perempuan kelompok intervensi mempunyai waktu reaksi pilihan yang lebih cepat dibandingkan dengan subyek perempuan kelompok kontrol. Akan tetapi, perbedaan tersebut tidak terlihat pada waktu reaksi sederhana (tabel 3). Sementara pada subyek laki-laki, tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok intervensi dan kelompok kontrol baik dalam waktu reaksi sederhana dan waktu reaksi pilihan (tabel 4).

**Tabel 3**  
**Perbandingan Waktu Reaksi Pada Subyek Perempuan**

Jenis Waktu reaksi	Kelompok intervensi (n = 5)	Kelompok kontrol (n = 5)	Nilai p
Sederhana stimulus cahaya	384,10 ± 62,1	417,40 ± 45,8	0,37
Sederhana stimulus suara	362,26 ± 35,5	392,60 ± 43,1	0,26
Pilihan	395,28 ± 48,5	467,88 ± 38,1	0,03

Keterangan. Data ditampilkan berupa rerata (simpang baku). Data waktu reaksi ditampilkan dengan satuan milidetik.

**Tabel 4**  
**Perbandingan Waktu Reaksi Pada Subyek Laki-Laki**

Jenis Waktu reaksi	Kelompok intervensi (n = 5)	Kelompok kontrol (n = 5)	Nilai p
Sederhana	328,96 ±	283,88 ±	0,24

stimulus cahaya	44,3	64,2	
Sederhana stimulus suara	299,16 ± 48,3	264,00 ± 51,5	0,29
Pilihan	360,02 ± 17,6	339,54 ± 38,8	0,33

Keterangan. Data ditampilkan berupa rerata (simpang baku). Data waktu reaksi ditampilkan dengan satuan milidetik.

Siklus perubahan hormonal yang terjadi setiap siklus menstruasi juga mempengaruhi waktu reaksi perempuan sebagaimana dilaporkan oleh Kusuma dan Jenie (2017) yang pada penelitiannya didapatkan waktu reaksi sederhana dan waktu reaksi pilihan melambat selama fase folikular dibandingkan pada saat menstruasi. Telah dilaporkan bahwa terjadi penurunan fungsi kognitif pada perempuan pasca menopause akibat dari kadar estrogen yang rendah dalam darah (Alhola, 2007). Penelitian lain menunjukkan bahwa terapi sulih estrogen dapat memperbaiki gangguan neurodegeneratif pada perempuan pasca menopause (Wu *et al.*, 2020). Hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa waktu reaksi dipengaruhi kadar estrogen dalam darah. Penelitian terkini mendapatkan bahwa estrogen tidak hanya mempengaruhi organ reproduksi perempuan namun juga mempengaruhi otak melalui reseptor estrogen yang terletak pada membran inti sel-sel saraf di otak. Estrogen mempunyai efek neuroprotektif karena berperan

melindungi otak dari stres dan proses degeneratif, seperti pada penyakit Alzheimer. Estrogen juga mempunyai efek neurotropik karena memacu produksi *nerve growth factor*. Pada sinap-sinap saraf di otak, estrogen meningkatkan kadar neurotransmitter, seperti serotonin, dopamin, dan norepinefrin, serta meningkatkan jumlah reseptor neurotransmitter (Cersosimo and Benarroch, 2015; Shepherd, 2001). Dari penjelasan tersebut timbul dugaan bahwa vitamin B1, B6, dan B12 berinteraksi dengan estrogen terhadap sel-sel saraf pada otak yang perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

## SIMPULAN DAN SARAN

Kombinasi vitamin oral B1, B6, dan B12 mempengaruhi waktu reaksi subyek perempuan dewasa muda sehat. Subyek perempuan dewasa muda sehat yang mendapat kombinasi vitamin oral B1, B6, dan B12 mempunyai waktu reaksi pilihan lebih cepat dibandingkan dengan plasebo. Timbul dugaan bahwa terdapat interaksi antara vitamin B1, B6, dan B12 dengan estrogen terhadap sel-sel saraf otak yang perlu dilakukan pengkajian pada penelitian selanjutnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alhola, P. 2007. *Cognitive Performance and Menopause. The Effects of Hormone Therapy and Sleep Deprivation*. [University of Turku]. [https://nfog.org/theses/paula\\_Alhola.pdf](https://nfog.org/theses/paula_Alhola.pdf)
- Calderón-Ospina, C. A., and Nava-Mesa, M. O. 2020. B Vitamins in the nervous system: Current knowledge of the biochemical modes of action and synergies of thiamine, pyridoxine, and cobalamin. *CNS Neurosci Ther.* 26(1). Pp: 5–13. <https://doi.org/10.1111/cns.13207>
- Cariappa, L., and Mohanraj, S. 2018. Exam Stress and Choice Reaction Time in First Year Medical Students. *J Evid Based Med Healthc.* 5. Pp: 2292–5. <https://doi.org/10.18410/jebmh/2018/474>
- Cersosimo, M., and Benarroch, E. 2015. Estrogen actions in the nervous system: Complexity and clinical implications. *Neurology.* 85. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001776>
- Defelipe, J., and Alonso-Nanclares, L. 2013. *The Synapse: Differences Between Men and Women*. Pp: 43–57. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-33721-5\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-642-33721-5_4)
- Der, G., and Deary, I. J. 2006. Age and sex differences in reaction time in adulthood: results from the United Kingdom Health and Lifestyle Survey. *Psychol Aging.* 21(1). Pp: 62–73. <https://doi.org/10.1037/0882-7974.21.1.62>
- Guan, H., Koceja, D. M., and Surburg, P. R. 2006. Reaction Time is Similar Between Dominant and Non-Dominant Hands. *Med Sci Sports Exerc.* 35(5). <https://coachsci.sdsu.edu/csa/vol155/guan.htm>
- Henry, F. M., and Rogers, D. E. 1960. Increased response latency for complicated movements and a “memory drum” theory of neuromotor reaction. *Res. Q. Am. Assoc. Health Phys. Educ.* 31(3). Pp: 448–58. <https://doi.org/10.1080/10671188.1960.10762052>
- Jain, A., Bansal, R., Kumar, A., and Singh, K. 2015. A comparative study of visual and auditory reaction times on the basis of gender and physical activity levels of medical first year students. *Int J Appl Basic Med Res.* 5(2). p: 124. <https://doi.org/10.4103/2229-516x.157168>
- Kemp, B. J. 1973. Reaction time of young and elderly subjects in relation to perceptual deprivation and signal-on versus signal-off conditions. *Dev Psychol.* 8(2). p: 268.
- Kennedy, D. O. 2016. B vitamins and the brain: Mechanisms, dose and efficacy—A review. *Nutrients,* 8(2). <https://doi.org/10.3390/nu8020068>
- Kosinski, R. J. 2010. *A Literature Review on Reaction Time.* 10 (August). <http://biology.clemson.edu/bpc/bp/Lab/110/reaction.htm>
- Kurniasari, A., Kustanti, A., and Harmilah, H. 2016. The Effect Benson Relaxation Technique With Anxiety In Hemodialysis Patients In Yogyakarta. *IJNP.1*. <https://doi.org/10.18196/ijnp.1149>
- Kusuma, A.T. and Jenie, I. . 2017. Reaction Time in Healthy Female Subjects in Relation to Monthly Sexual Cycle. *SMU Med J.* 4(2). Pp: 113–9.
- Muley, A.D., Wadikar, S.S., and Muley, P.D. 2016. Effect of exam Stress on reaction time in medical students. *Indian J Basic Appl Med Res.* 5. Pp: 733–9. [www.ijbamr.com](http://www.ijbamr.com)
- Moussa, F. 2020. Effectiveness of Multidisciplinary Team Members in A Complex, High-Risk, And Stressful Critical Care Unit (CCU). *IJHS.* 4. p: 99. <https://doi.org/10.24269/ijhs.v4i2.2129>
- Nawaz, A., Khattak, N. N., Khan, M. S., Nangyal, H., Sabri, S., and Shakir, M. 2020. Deficiency of vitamin B12 and its relation with neurological disorders: a

- critical review. *J Basic Appl Zool.* 81(1).  
<https://doi.org/10.1186/s41936-020-00148-0>
- Ramdan, I. M. 2019. Reliability and Validity Test of the Indonesian Version of the Hamilton Anxiety Rating Scale (HAM-A) to Measure Work-related Stress in Nursing. *Jurnal Ners*, 14(1), 33. <https://doi.org/10.20473/jn.v14i1.10673>
- Reigal, R. E., Barrero, S., Martín, I., Morales-Sánchez, V., Juárez-Ruiz de Mier, R., & Hernández-Mendo, A. 2019. Relationships Between Reaction Time, Selective Attention, Physical Activity, and Physical Fitness in Children. *Front. Psychol.* 10(October). Pp: 1–8. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2019.02278>
- Shelton, J., and Kumar, G. P. 2010. Comparison between Auditory and Visual Simple Reaction Times. *Neurosci Med.* 01(01). Pp: 30–2. <https://doi.org/10.4236/nm.2010.11004>
- Shepherd, J. E. 2001. Effects of estrogen on cognition mood, and degenerative brain diseases. *J. Am. Pharm. Assoc.* 41(2). Pp: 221–8. [https://doi.org/10.1016/s1086-5802\(16\)31233-5](https://doi.org/10.1016/s1086-5802(16)31233-5)
- Silverman, I. W. 2006. Sex Differences in Simple Visual Reaction Time: A Historical Meta-Analysis. *Sex Roles*, 54(1), 57–68. <https://doi.org/10.1007/s11199-006-8869-6>
- Thompson, P. D., Colebatch, J. G., Brown, P., Rothwell, J. C., Day, B. L., Obeso, J. A., and Marsden, C. D. 1992. Voluntary stimulus-sensitive jerks and jumps mimicking myoclonus or pathological startle syndromes. *Mov. Disord.* 7(3). Pp: 257–62. <https://doi.org/10.1002/mds.870070312>
- Vishteh, A.R., Mirzajani, A., Jafarzadehpour, E., and Darvishpour, S. 2019. Evaluation of simple visual reaction time of different colored light stimuli in visually normal students. *Clin Optim.* 11. Pp: 167–71. <https://doi.org/10.2147/OPTO.S236328>
- Wadoo, O. K., and Syeed, S. I. 2019. Comparative Study of Simple and Choice Visual Reaction Time in Young Adults. *IJRR.* 6(June). Pp: 337–40.
- Wu, M., Li, M., Yuan, J., Liang, S., Chen, Z., Ye, M., Ryan, P. M., Clark, C., Tan, S. C., Rahmani, J., Varkaneh, H. K., and Bhagavathula, A. S. 2020. Postmenopausal hormone therapy and Alzheimer's disease, dementia, and Parkinson's disease: A systematic review and time-response meta-analysis. *Pharmacol. Res.* 155, 104693. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104693>

# DAMPAK PEMBERIAN JUICE BUAH NAGA MERAH PADA PERUBAHAN KARDIORESPIRASI DALAM AKTIVITAS FISIK MAKSIMUM

## IMPACT INGESTION OF RED DRAGON FRUIT JUICE ON CARDIORESPIRATION CHANGE IN MAXIMUM PHYSICAL ACTIVITY

Hafiz Anugrah Mursyid<sup>1</sup>, Gusbakti Rusip<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

<sup>2</sup>Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Koresponden: Prof. Dr. dr. Gusbakti Rusip, M. Sc,PKK, AIFO (K). Email: [gusbakti@umsu.ac.id](mailto:gusbakti@umsu.ac.id)

### ABSTRAK

Aktifitas fisik berkontribusi terhadap stress oksidatif yang dapat mengakibatkan penurunan antioksidan sehingga mempengaruhi kebugaran fisik. Antioksidan diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan stress oksidatif. Telah diketahui kandungan buah naga merah kaya antioksidan berguna untuk menetralkan stress oksidatif yang terjadi akibat aktifitas fisik. Salah satu cara menilai kebugaran fisik seseorang dengan mengukur nilai  $VO_2$  max dan denyut nadi pemulihan. Jenis penelitian adalah quasi experimental dirancang dengan pre – post control group design. Populasi dan sampel penelitian mahasiswa Fakultas Kedokteran UMSU sebanyak 32 orang yang memenuhi kriteria menjadi 2 kelompok yaitu kelompok perlakuan dan kontrol selama 4 minggu. Dilakukan pengukuran  $VO_2$  max dan denyut nadi pemulihan. Penelitian ini menunjukkan hasil yang signifikan didapatkan nilai  $VO_2$  max sebelum dan sesudah perlakuan dengan nilai  $p = 0.004$  ( $p < 0.05$ ) dan denyut nadi pemulihan sebelum dan sesudah perlakuan dengan nilai rerata dari 80 per menit menurun menjadi 75 per menit. Kesimpulan penelitian, bahwa dengan pemberian jus buah naga merah mempunyai pengaruh terhadap peningkatan fungsi kardiorespirasi, dengan demikian tentunya dapat menunjukkan tingkat kebugaran fisik lebih baik.

**Kata kunci:** Buah Naga Merah,  $VO_2$  max, Denyut Nadi Pemulihan

### ABSTRACT

Physical activity contributes to oxidative stress which can result in a decrease in antioxidants that affects physical fitness. Antioxidants are needed by the body to neutralize free radicals and prevent damage to oxidative stress. It is known that the content of antioxidant-rich red dragon fruit is useful for neutralizing oxidative stress triggered by physical activity. One way to assess one's physical fitness is by measuring the  $VO_2$  max value and recovery pulse rate. This study was a quasi-experimental study with pre-post test only group design. Research subjects were 32 students, which were divided into 2 groups, the treatment and control group for 4 weeks.  $VO_2$  max and recovery pulse measurements were taken. This study showed increased found  $VO_2$  max values before and after treatment  $p = 0.004$  ( $p < 0.05$ ) and the recovery rate before and after treatment with a value means of 80 per minute decreased to 75 per minute. Ingestion juice red dragon fruit has an increasing function cardiorespiration, thus certainly can show a better level of physical fitness

**Keywords:** Red Dragon Fruit,  $VO_2$  max, Recovery Pulse

**How To Cite:** Mursyid, H., & Rusip, G. (2021). DAMPAK PEMBERIAN JUICE BUAH NAGA MERAH PADA PERUBAHAN KARDIORESPIRASI DALAM AKTIVITAS FISIK MAKSIMUM. Biomedika, 13(1), 12-18. doi:<https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.10643>

**DOI:** <https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.10643>

## PENDAHULUAN

Aktifitas fisik berkontribusi terhadap stress oksidatif khususnya ketika aktifitas fisik dengan intensitas tinggi. Mekanisme yang menyebabkan stress oksidatif pada aktifitas fisik dapat meningkatnya prooksidan sehingga peningkatan konsumsi oksigen selama aktifitas fisik juga dapat meningkatkan pembentukan reactive oxygen species (ROS) dan menyebabkan stres oksidatif (Sinaga, 2016).

Hasil studi menunjukkan bahwa stress oksidatif merupakan salah satu faktor yang bertanggung jawab terhadap kerusakan eritrosit selama dan setelah latihan fisik dan dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan otot (Viña, 2000). Peningkatan radikal bebas akibat aktifitas fisik juga dapat mempengaruhi jalur energi aerobik di dalam mitokondria, menyebabkan terjadinya kelelahan dan kebugaran seseorang (Dekkers, 1996).

Penggunaan buah naga merah sebagai antioksidan menjadi hal baru dalam upaya pencegahan faktor-faktor risiko penyakit seperti penyakit jantung koroner, kanker dan juga dapat menurunkan tekanan darah. Pada buah naga jenis merah memiliki kandungan antioksidan yang lebih banyak dibandingkan buah naga jenis putih. Pada penelitian sebelumnya dikatakan

bahwa buah naga mengandung polifenol terbanyak dibandingkan jenis lainnya yaitu  $86,13 \pm 17,02$  mg dalam 0,50 gr ekstrak kering buah naga merah dan antosianin sekitar 8,8 mg/100gr buah naga merah yang dibutuhkan oleh tubuh untuk mencegah pembentukan radikal bebas (Sigarlaki dan Tjiptaningrum, 2016; Rebecca, 2010).

Penelitian sebelumnya mengemukakan bahwa atlet di bawah pelatihan berat dan kompetisi tidak mampu mempertahankan kadar antioksidan secara optimal pada jaringan (Andani dan Widyastuti, 2017). Sehubungan dengan itu, penelitian sebelumnya menyatakan bahwa kerusakan oksidatif akibat aktifitas fisik mungkin dapat dicegah dengan mengoptimalkan gizi, terutama dengan meningkatkan kandungan antioksidan pada makanan (Suminar *et al.*, 2018).

Saat ini penelitian tentang buah naga terhadap tingkat kebugaran belum banyak dilakukan, membuat peneliti tertarik untuk menggunakan buah naga terutama buah naga merah yang memiliki antioksidan terbanyak dari jenis buah naga lainnya. Tujuannya untuk mengetahui pengaruh buah naga merah terhadap perubahan kardiorespirasi pada aktifitas fisik maksimal.

## METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian ini dalam bentuk studi eksperimental. Desain penelitian yang digunakan adalah quasi experimental pre-test dan post-test group design. Data diperoleh sebelum dan sesudah dilakukan intervensi jus buah naga merah sebanyak 100 gram buah naga merah dan diberi air mineral sebanyak 150 cc dalam sediaan 250 ml/hari setiap hari selama 4 minggu menggunakan metode Bruce Treadmill Test Protocol.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Dengan ethical clearance dari komisi etik penelitian Fakultas Kedokteran UMSU No.309/KEPK/FKUMSU/2019.

Sampel yang memenuhi kriteria inklusi adalah bersedia menandatangani informed consent, berusia 18 – 25 tahun, IMT 18 – 25 Kg/m<sup>2</sup> dan kriteria eksklusi yaitu naracoba yang keluar pada saat penelitian sedang berlangsung. Sampel berjumlah 32 orang berjenis kelamin laki – laki. Dilakukan pengelompokkan dengan dua kelompok. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol dan kelompok kedua adalah kelompok perlakuan. Selanjutnya, naracoba yang telah ditentukan dengan dilakukan

pengukuran kardiorespirasi ( $VO_2$  max dan denyut nadi pemulihan) sebelum dan sesudah dilakukan intervensi jus buah naga merah, pengukuran  $VO_2$  max dengan menggunakan metode Bruce Treadmill Test Protocol. Rumus  $VO_2$  max (ml/kg/min) yaitu  $2.94 \times T + 7.65$ . Kemudian denyut nadi pemulihan dihitung pada menit 0, 5, 10, 15, 30, dan 60.

Data yang diperoleh dari pemberian jus buah naga merah terhadap kardiorespirasi dilakukan uji normalitas data dengan uji Shapiro-Wilk. Selanjutnya data dianalisis dengan uji T-paired test. Setelah itu dilakukan uji regresi linier untuk mengetahui perkiraan denyut nadi kembali mencapai normal. Analisis statistik dilakukan dengan program SPSS versi 22.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Nilai $VO_2$ max

Dari hasil pengukuran  $VO_2$  max kelompok kontrol pretest didapatkan rerata 38.52 ml/kg/menit dengan kelompok kontrol posttest diberikan uji latih yaitu 40.34 ml/kg/menit. Terlihat bahwa terjadi peningkatan nilai rerata  $VO_2$  max antara kelompok kontrol pretest dan posttest.

**Table 1. Nilai rerata VO<sub>2</sub> max**

Kelompok	Rerata VO <sub>2</sub> max	
	Pretes	Posttest
Kontrol	38,52 ± 7,35	40,34 ± 3,88
Perlakuan	42,39 ± 6,79	49,45 ± 4,60

Dari hasil pengukuran VO<sub>2</sub> max kelompok perlakuan pretest diberikan jus buah naga merah didapatkan rerata 42.39 ml/kg/menit dengan kelompok perlakuan posttest yaitu 49.45 ml/kg/menit terlihat bahwa nilai rerata VO<sub>2</sub> max terjadi peningkatan pada kelompok perlakuan pretest dan posttest.

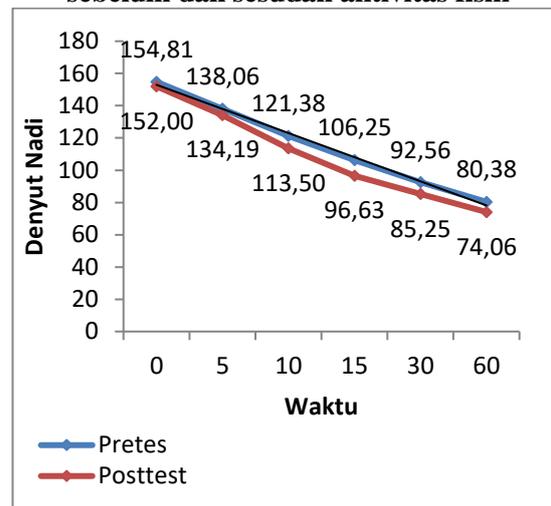
### Uji Analisis Statistik

Pada hasil uji normalitas Shapiro-Wilk, didapatkan nilai p pada data pre-test kontrol dan post-test kontrol masing masing sebesar 0.100 dan 0.175. Dan hasil pre-test perlakuan dan post-test perlakuan sebesar 0.086 dan 0.406. Dalam uji normalitas, data dianggap terdistribusi normal apabila didapatkan nilai  $p > 0.05$ . Hal ini bermakna, sebaran data yang didapatkan berdistribusi normal, dan maka dilanjutkan dengan analisis data parametrik dengan uji t-test berpasangan pada kelompok yang berdistribusi normal.

Dari hasil analisis pengukuran dengan uji t berpasangan didapatkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan sebelum dan sesudah aktifitas fisik

menunjukkan  $p = 0.004$  yaitu ( $p < 0.05$ ). Artinya adanya perbedaan antara kelompok perlakuan pretest dan posttest yang telah diberi intervensi jus buah naga merah.

**Perubahan denyut nadi kelompok perlakuan sebelum dan sesudah aktivitas fisik**



**Gambar 1.** Nilai rerata denyut nadi kelompok perlakuan sebelum dan sesudah aktivitas fisik

Dari hasil ini menunjukkan rerata perubahan denyut nadi bagi naracoba sebelum dan sesudah diberikan perlakuan. Frekuensi rerata denyut nadi sebelum lebih tinggi dibandingkan sesudah perlakuan.

Waktu pemulihan denyut nadi untuk kelompok perlakuan sebelum adalah 80 menit sedangkan kelompok perlakuan sesudah 75 menit. Dosis tersebut didapatkan dari perhitungan persamaan regresi linier. Berikut persamaannya:

$$Y_{\text{sebelum}} = -1,131(X_{\text{sebelum}}) + 138,19$$

$$Y_{\text{sesudah}} = -1,166(X_{\text{sesudah}}) + 132,58$$

Untuk menentukan waktu pemulihan denyut nadi, dimasukkan nilai  $Y =$  denyut nadi sebelum perlakuan diberi jus buah naga dan dianggap denyut nadi normal dari subjek. Sehingga didapatkan rata – rata nilai  $X_{\text{sebelum}} = 80$  untuk kelompok perlakuan sebelum dan  $X_{\text{sesudah}} = 75$  untuk kelompok perlakuan sesudah diberi jus buah naga. Nilai  $X$  adalah nilai dari waktu pemulihan denyut nadi sebesar 80 menit untuk kelompok perlakuan sebelum dan 75 menit untuk kelompok perlakuan sesudah diberi jus buah naga merah.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi peningkatan  $VO_2 \text{ max}$  baik pada kelompok perlakuan sebelum dan sesudah pemberian jus buah naga merah selama menjalani program latihan diakibatkan karena difusi paru orang terlatih lebih baik daripada orang yang tidak terlatih. Semakin baik difusi paru, semakin besar volume gas berdifusi, maka akan bertambah baik kemampuan seseorang dalam melakukan pembebanan kardiorespirasi tanpa mengalami kelelahan yang cukup berarti. Dampaknya pada orang yang terlatih akan bernafas lebih lambat dan dalam sehingga oksigen yang diperlukan untuk kerja otot pada proses ventilasi pun berkurang.

Akibatnya dengan jumlah oksigen yang sama, orang terlatih akan bekerja lebih efektif daripada orang yang tidak terlatih. Dengan demikian, selama melakukan aktifitas latihan secara rutin dalam penelitian ini akan meningkatkan nilai  $VO_2 \text{ max}$ . Peningkatan nilai  $VO_2 \text{ max}$  disebabkan bertambahnya kandungan  $O_2$  di dalam arteri dan vena. Jika dibandingkan dengan peningkatan  $VO_2 \text{ max}$  yang paling besar didapat pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini dapat dijelaskan bahwa pemberian jus buah naga merah selama menjalani program latihan dapat mencegah terjadinya stress oksidatif yang mengakibatkan peroksidasi lipid membrane sel terutama sel darah merah (Sinaga *et al.*, 2017). Hal diatas didukung dari hasil penelitian yang dilakukan sebelumnya tentang pemberian jus jeruk manis terjadi peningkatan nilai  $VO_2 \text{ max}$  pada atlet sepak bola mengalami perbedaan yang signifikan (Andani dan Widyastuti, 2017).

Buah naga adalah salah satu buah yang mengandung kaya akan antioksidan yang memiliki senyawa fenol dan flavonoid. Senyawa fenol yang berfungsi sebagai antioksidan karena kemampuannya menetralkan radikal bebas dan radikal peroksida sehingga efektif dalam menghambat oksidasi lipid. Flavonoid

mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas akibat dari aktifitas fisik (Prakoso, 2017). Sehingga konsumsi buah naga juga dapat meningkatkan nilai  $VO_2$  max.

Selain itu buah naga merah juga mampu menurunkan denyut nadi pemulihan cepat diakibatkan karena mengandung cairan elektrolit berupa kalium yang dapat menggantikan cairan yang hilang melalui keringat. Kalium merupakan ion intraseluler dan dihubungkan dengan mekanisme pertukaran dengan natrium. Ion kalium dalam cairan ekstrasel akan menyebabkan jantung menjadi relaksasi dan membuat frekuensi denyut jantung menjadi lambat. Selain itu kalium dapat mengatur keseimbangan cairan tubuh bersama natrium, menghambat pengeluaran rennin, berperan dalam vasodilatasi arteriol, dan mengurangi respon vasokonstriksi endogen sehingga tekanan darah turun dan denyut nadi pemulihan lebih cepat (Nisa dkk., 2019). Kelemahan pada penelitian ini adalah tidak mengontrol pola makan dan pola hidup dari naracoba.

## KESIMPULAN

Pemberian jus buah naga merah mempunyai pengaruh terhadap peningkatan

fungsi kardiorespirasi, dengan demikian tentunya dapat menunjukkan tingkat kebugaran fisik lebih baik

## DAFTAR PUSTAKA

- Andani AS dan Widyastuti N. 2017. Pengaruh pemberian jus jeruk manis (*Citrus Sinensis*.) terhadap nilai  $VO_2$ max atlet sepak bola di Gendut Dony Training Camp (GDTC) Salatiga. *J Gizi Indones.* 5(2). p: 68. doi:10.14710/jgi.5.2.68-74
- Dekkers JC, van Doornen LJ, and Kemper HC. 1996. The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. *Sports Med.* 21(3). Pp: 213-38. doi: 10.2165/00007256-199621030-00005. PMID: 8776010.
- Nisa F.K., Ningtyas, F.W., dan Sulistyani, S. 2019. Pengaruh pemberian jus buah naga merah (*hylocereus polyrhizus*) terhadap penurunan tekanan darah. *Ghidza J Gizi dan Kesehatan.* 3(1). p: 12.
- Prakoso, L. O., Yusmaini, H., Thadeus, M. S., dan Wiyono, S. 2017. Perbedaan efek ekstrak buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan ekstrak buah naga putih (*Hylocereus undatus*) terhadap kadar kolesterol total tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Gizi Dan Pangan.* 12(3). Pp: 195-202. <https://doi.org/10.25182/jgp.2017.12.3.195-202>
- Sigarlaki E.D. dan Tjiptaningrum, A. 2016. Pengaruh pemberian buah naga merah (*hylocereus polyrhizus*) terhadap kadar kolesterol Total. *Majority.* 5(5). Pp:14-17.
- Sinaga FA. 2016. Stress oksidatif dan status antioksidan pada aktivitas fisik maksimal. *Gener Kampus.* 9(2). Pp: 176-89. doi:10.1042/BJ20091286
- Sinaga FA, Risfandi M, Mesnan, and Jumadin I.P. 2017. The Effect of giving red guava fruit juice towards haemoglobin and  $Vo_2$ max contents on maximum physical activity. *IJSR.* 06 (09). Pp: 1185-9. ISSN 2319-7064

- Suminar TJ, Kusnanik, N.W., and Wiriawan, O. 2018. High-impact aerobic and zumba fitness on increasing VO<sub>2</sub>max, heart rate recovery and Skinfold Thickness. *J Phys Conf Ser.* 947(1). doi:10.1088/1742-6596/947/1/012016
- Viña J, Gomez-Cabrera MC, Lloret A, Marquez R, Miñana JB, Pallardó FV, and Sastre J. 2000. Free radicals in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants. *IUBMB Life.* 50(4-5). Pp: 271-7. doi: 10.1080/713803729. PMID: 11327321.
- Rebecca OPS, Boyce, A.N., and Somasundram, C. 2010. Pigment identification and antioxidant properties of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *African J Biotechnol.* 9(10). Pp: 1450-4.

# GAMBARAN PENGETAHUAN MAHASISWA NON FAKULTAS KESEHATAN TENTANG GINGIVITIS

## *DESCRIPTION OF NON HEALTH FACULTIES STUDENT KNOWLEDGE ABOUT GINGIVITIS*

Ana Riolina<sup>1</sup>, Ghinna Yulia Indarti<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departemen Kedokteran Gigi Masyarakat, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta

<sup>2</sup> Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta

Korespondensi: drg. Ana Riolina, MPH. Email: ar168@ums.ac.id

### **ABSTRAK**

*Gingivitis merupakan peradangan pada gingiva akibat infeksi bakteri yang dapat menyebabkan periodontitis dan gigi goyah. Gingivitis mempengaruhi 50-90% populasi orang dewasa di dunia, karenanya gingivitis menjadi perhatian dalam pemberian informasi melalui promosi kesehatan pada kelompok usia tersebut. Di negara berkembang, penyampaian promosi kesehatan lebih banyak menggunakan berbagai macam media massa dengan keefektifan yang bervariasi. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui gambaran pengetahuan gingivitis pada mahasiswa S1 non fakultas kesehatan UMS yang telah mendapatkan promosi kesehatan gigi dan mulut melalui media massa. Metode penelitian ini menggunakan deskriptif observasional. Subjek penelitian ini adalah 394 mahasiswa S1 non fakultas kesehatan UMS. Analisis data menggunakan metode deskriptif survey dengan menguraikan data – data yang disajikan dalam bentuk diagram, grafik maupun tabel. Hasil penelitian menunjukkan mahasiswa yang mengetahui tentang gingivitis adalah mahasiswa yang mendapat promosi kesehatan melalui internet / sosial media yaitu sebanyak 356 (90,3%), media elektronik 22 (5,6%) dan media cetak 16 (4,1%) mahasiswa. Tingkat pengetahuan mahasiswa tentang gingivitis baik sebanyak 259 (65,7%) mahasiswa dan yang buruk 135 (34,3%) mahasiswa. Kesimpulan penelitian ini adalah sebagian besar mahasiswa memiliki pengetahuan yang baik tentang gingivitis setelah mendapatkan promosi kesehatan.*

**Kata Kunci:** Promosi kesehatan, Gigi dan mulut, Media Massa, Gingivitis

### **ABSTRACT**

*Gingivitis is a gingiva inflammation from bacterial infection that can cause periodontitis and wobbly teeth. Gingivitis affects 50-90% of the adult population in the world, because of it gingivitis became an attention on the need for health promotion in adulthood to old. In developing countries, delivering health promotion uses some kind of mass media with varying effectiveness. The purpose of this research is to find out about the knowledge of gingivitis in UMS non – health faculties undergraduate students who are given dental and oral health promotion through mass media. The method of this research is descriptive observational. The subjects of this study were 394 non – health faculties undergraduate students of UMS. Data analysis uses a descriptive survey method by describing the data that presented in the form of diagrams, graphs or tables. The results shows the students who know about gingivitis are the students who find health promotion's exposure through the internet / social media is 356 (90.3%), electronic media 22 (5.6%) and print media 16 (4.1%) students. The level of good knowledge of students about gingivitis is 259 (65.7%) students and poor knowledge is 135 (34.3%) students. This study concluded that most students have good knowledge about gingivitis.*

**Keywords:** Health promotion, Teeth and mouth, Mass Media, Gingivitis

**How To Cite:** Riolina, A., & Indarti, G. (2021). GAMBARAN PENGETAHUAN MAHASISWA NON FAKULTAS KESEHATAN TENTANG GINGIVITIS. *Biomedika*, 13(1), 19-27. doi:<https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.10810>

**DOI:** <https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.10810>

## PENDAHULUAN

Penyakit periodontal menjadi penyakit yang paling umum terjadi bahkan mempunyai prevalensi tinggi dan mencapai 90% populasi dunia. Gingivitis mempengaruhi 50-90% populasi orang dewasa di dunia (Casanova *et al.*, 2014; Hiremath *et al.*, 2013). Menurut Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2013 prevalensi gingivitis di Indonesia berada pada urutan kedua terbanyak yaitu mencapai 96,58% (Kementrian Kesehatan RI, 2013).

Gingivitis merupakan suatu inflamasi yang mengenai jaringan gingiva (Manson and Eley, 2013). Pada gingivitis, gusi tampak *eritematosa, edema*, dan mungkin berdarah saat diperiksa (Cope, 2011). Gingivitis disebabkan oleh biofilm bakteri (plak gigi) yang terakumulasi pada gigi yang berdekatan dengan gingiva. Jika tidak segera diobati, maka akan menyebabkan periodontitis dan gigi goyah (Gonçalves *et al.*, 2011).

Tingginya angka gingivitis pada usia dewasa hingga tua menandakan bahwa perlunya dilakukan promosi kesehatan. Promosi kesehatan dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai alat seperti penggunaan media dalam menyampaikan pesan kesehatan (Pine C dan Harris R sit Gholami *et al.*, 2014).

Penggunaan media diharapkan dapat meningkatkan kesadaran dan pengetahuan masyarakat tentang kesehatan agar dapat mencegah dan mengobati penyakit yang diderita (Saleh *et al.*, 2017). Di negara berkembang dalam menyampaikan promosi kesehatan lebih banyak menggunakan media massa. Televisi dan radio telah diadvokasi sebagai alat yang berguna untuk transmisi informasi kesehatan mulut (Gholami *et al.*, 2014). Survei Nielsen Consumer Media View (CMV) menunjukkan masyarakat Indonesia lebih banyak menggunakan media televisi dengan persentasi mencapai 96%. Di urutan selanjutnya ada media luar ruang 53%, internet 44%, dan radio 37% (Nielsen Indonesia, 2017). Seiring pesatnya perkembangan teknologi, penggunaan internet dan sosial media juga mulai digunakan sebagai sumber informasi kesehatan (Akram and Kumar, 2017)

Penelitian Gholami *et al.* (2014) yang menunjukkan dampak yang signifikan dari kampanye media massa terhadap meningkatnya pengetahuan tentang kesehatan dan penyakit periodontal pada orang dewasa Iran.

Universitas Muhammadiyah Surakarta (UMS) adalah lembaga pendidikan tinggi di bawah perserikatan muhammadiyah.

Berdasarkan data kemahasiswaan, jumlah mahasiswa kesehatan di jenjang S1 adalah 4.480 sedangkan mahasiswa non kesehatan S1 adalah 26.163. Pada mahasiswa kesehatan sudah mendapatkan pengetahuan tentang kesehatan gigi dan mulut melalui pembelajaran di kampus.

Berdasarkan uraian diatas, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana gambaran pengetahuan tentang gingivitis pada mahasiswa S1 non fakultas kesehatan UMS yang terpapar promosi kesehatan gigi dan mulut melalui media massa.

Manfaat yang diharapkan adalah menggambarkan pengetahuan mahasiswa S1 non fakultas kesehatan UMS tentang gingivitis.

## METODE

Penelitian ini adalah penelitian deskriptif observasional dengan menggunakan desain penelitian *evaluation study*. Variabel penelitian ini terdiri dari 2 variabel yaitu promosi kesehatan gigi dan mulut melalui media massa dan pengetahuan mahasiswa S1 non fakultas kesehatan UMS tentang gingivitis. Subjek pada penelitian ini adalah 394 mahasiswa S1 non fakultas kesehatan UMS. Metode pengambilan sampel menggunakan *non probability sampling* dengan teknik sampling

purposif. Besar sampel dihitung menggunakan rumus Slovin, sebagai berikut :

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

Keterangan :

n: jumlah sampel

N: jumlah populasi

e: batas toleransi kesalahan (*error tolerance*) 5%

Berdasarkan rumus tersebut besar sampel yang diperoleh ialah sebagai berikut:

$$\begin{aligned} n &= \frac{N}{1 + Ne^2} \\ &= \frac{26.163}{1 + (26.163 (0,05)^2)} \\ &= 394 \end{aligned}$$

Pengambilan data dilakukan pada bulan Februari – Maret dengan menggunakan kuisisioner yang berupa *google form*. Analisis data dilakukan menggunakan metode deskriptif survey dengan cara menguraikan data-data. Data disajikan dalam bentuk diagram, grafik atau tabel untuk mengetahui frekuensi tingkat pengetahuan responden kemudian dianalisis secara deskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian dilakukan terhadap 394 mahasiswa S1 non fakultas kesehatan UMS pada bulan Februari – Maret 2020. Instrumen yang digunakan adalah kuisisioner dalam bentuk

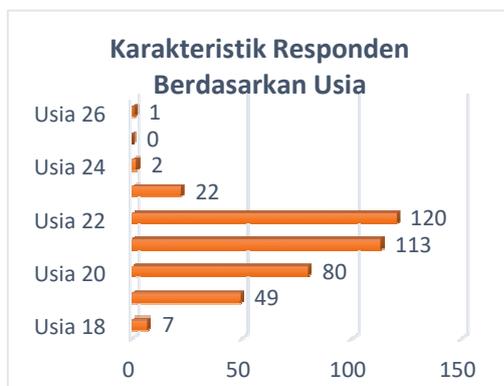
google form untuk mengukur tingkat pengetahuan mahasiswa S1 non fakultas kesehatan UMS. Berdasarkan hasil kuisioner diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok berdasarkan jenis kelamin, umur, dan jenis paparan media.

**Tabel 1. Distribusi Frekuensi jenis Kelamin**

Jenis Kelamin	N (%)
Laki-laki	165 (41,9)
Perempuan	229 (58,1)
Total	394 (100)

Berdasarkan tabel 1 karakteristik mahasiswa yang mengisi kuisioner adalah laki-laki 165 (41,9%) mahasiswa dan perempuan sebanyak 229 (58,1%) mahasiswa.

**Tabel 2. Distribusi Frekuensi Berdasarkan Umur**



Berdasarkan tabel 2 karakteristik mahasiswa yang mengisi kuisioner adalah mahasiswa yang berusia 20 – 22 tahun.

Pada penelitian ini mahasiswa yang mengisi kuisioner didominasi oleh perempuan dan mahasiswa yang berusia 22 tahun. Hasil ini

berbanding terbaik dengan penelitin Gholami *et al.* (2014) yang paling banyak respondennya laki-laki dan sekitar berumur 25-34 tahun. Dominasi mahasiswa yang mengisi kuisioner dapat dikarenakan wanita lebih beresiko terkena gingivitis akibat dari perubahan hormon seperti yang terlihat selama masa pubertas, kehamilan dan menopause yang telah dikaitkan dengan gingivitis (Gagari *and* Damoulis, 2011). Selain itu, gingivitis mempengaruhi 50 – 90% populasi orang dewasa di dunia (Hiremath *et al.*, 2013). Tingginya prevalensi itu memperlihatkan usia dewasa memiliki resiko tinggi terkena gingivitis. Penulis berpendapat masyarakat yang termasuk resiko tinggi akan menggali lebih banyak informasi tentang gingivitis dari berbagai media, dan mereka juga lebih memperhatikan dan lebih mengingat informasi yang didapat mengenai gingivitis.

**Tabel 3. Distribusi Frekuensi Berdasarkan Jenis Paparan Media**

Jenis media	n (%)
Media elektronik	22 (5,6)
Media cetak	16 (4,1)
Internet/sosial media	356 (90,3)

Karakteristik mahasiswa yang mengetahui tentang gingivitis paling banyak adalah mahasiswa yang mendapati paparan melalui internet / sosial media yaitu sebanyak

356 (90,3%) mahasiswa dan yang paling sedikit melalui media cetak 16 (4,1%) mahasiswa.

Karakteristik responden yang mengetahui tentang gingivitis paling banyak adalah mahasiswa yang mendapati informasi melalui internet / sosial media yaitu sebanyak 90,3% mahasiswa. Tingginya angka ini sesuai dengan survei yang dilakukan Asosiasi Penyelenggara Jasa Internet Indonesia 2018 menunjukkan bahwa internet didominasi oleh masyarakat yang berusia 17-25 tahun dan 26-35 tahun. Selain itu, informasi melalui internet / media sosial mengenai gingivitis sudah banyak, penjelasan lebih lengkap, serta lebih cepatnya update informasinya (Statista, 2019). Menggunakan internet / media sosial yang bisa kapan saja dan dimana saja membuat semakin sering mereka terpapar informasi mengenai gingivitis dibandingkan melalui media elektronik maupun media cetak (Kamariah dkk., 2017).

**Tabel 4. Pengetahuan tentang Gingivitis**

Item Soal	n (%)
Pengertian gingivitis	314 (79,7)
Tanda-Tanda gingivitis	147 (37,3)
Gejala gingivitis yang dirasakan	266 (67,5)
Penyebab utama gingivitis	245 (62,2)
Orang yang rentan terkena gingivitis	325 (82,5)

Perawatan gingivitis	343 (87,1)
Akibat yang terjadi jika gingivitis tidak segera ditangani	181 (45,9)
Cara pencegahan gingivitis	249 (63,2)

Berdasarkan tabel 4 menunjukkan jumlah mahasiswa menjawab benar tentang pengetahuan gingivitis. Sebagian besar mahasiswa menjawab benar pada pertanyaan tentang perawatan gingivitis yaitu sebanyak 343 (87,1%) mahasiswa. Akan tetapi masih banyak mahasiswa yang keliru tentang tanda-tanda gingivitis sehingga hanya 147 (37,3%) yang menjawab pertanyaan dengan benar.

Gingivitis adalah penyakit yang menyebabkan peradangan pada jaringan gingiva (Mitchell *et al.*, 2012). Pada gingivitis, gusi tampak eritematosus (kemerahan), edema (bengkak), dan mungkin berdarah saat ditekan (Cope, 2011). Pada penelitian ini sebagian besar mahasiswa mengetahui dengan baik tentang pengertian gingivitis 79,7% dan gejala yang dirasakan 67,5%. Akan tetapi, masih banyak mahasiswa yang keliru tentang tanda-tanda mengenai gingivitis. Gingivitis disebabkan oleh biofilm bakteri (plak gigi) yang terakumulasi pada gigi yang berdekatan dengan gingiva (Gonçalves *et al.*, 2011). Sebanyak 62,2%

mahasiswa sudah banyak menjawab benar tentang penyebab utama gingivitis. Selain faktor utama, sejumlah faktor lainnya dapat mempengaruhi meningkatnya risiko terkena gingivitis baik pada tingkat lokasi dengan predisposisi akumulasi plak lokal, atau dengan memodifikasi respons inflamasi inang. Beberapa diantaranya adalah merokok, diabetes, dan perubahan hormon (Cope, 2011). Hasil penelitian menunjukkan sebanyak 82,5% mahasiswa sudah mengetahui tentang orang yang beresiko terkena gingivitis.

Penyakit gingivitis merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh plak, dengan demikian mengontrol plak menjadi kunci keberhasilan perawatan. Teknik korektif dapat meliputi membersihkan akar gigi, skeling, bedah regeneratif, bedah periodontal serta bedah mukogingiva (Mitchel *et al.*, 2012). Jika tidak segera diobati, maka akan menyebabkan periodontitis dan gigi goyah (Gonçalves *et al.*, 2011). Sebanyak 87,1% mahasiswa sudah mengetahui dengan baik cara penanganan penyakit gingivitis tetapi masih banyak mahasiswa yang perlu mendapat informasi mengenai akibat yang akan terjadi jika gingivitis tidak segera diobati. Penelitian telah menunjukkan bahwa praktik kebersihan mulut

yang baik, termasuk menyikat gigi dan menggunakan obat kumur yang tepat telah terbukti efektif dalam mencegah gingivitis (Li *et al.*, 2010). Dalam hal pencegahan gingivitis, sebanyak 63,2% mahasiswa mengetahuinya dengan baik.

**Tabel 5. Frekuensi Tingkat Pengetahuan Mahasiswa**

Tingkat Pengetahuan	n (%)
Baik	259 (65,7)
Buruk	135 (34,3)
Total	394 (100)

Berdasarkan tabel 5 menggambarkan frekuensi tingkat pengetahuan responden tentang gingivitis baik yaitu sebanyak 259 (65,7%) mahasiswa dan yang buruk 135 (34,3%) mahasiswa.

**Tabel 6. Frekuensi Tingkat Pengetahuan Berdasarkan Jenis Paparan Media**

Tingkat Pengetahuan	Media Elektronik n (%)	Media Cetak n (%)	Internet/Sosial Media n (%)
Baik	14 (63,6)	10 (62,5)	235 (66,0)
Buruk	8 (36,4)	6 (37,5)	121 (34,0)
Total	22 (100)	16 (100)	356 (100)

Berdasarkan tabel 6 menggambarkan mahasiswa yang mendapati informasi melalui internet / media sosial memiliki pengetahuan

paling baik yaitu sebanyak 235 (66,0%) mahasiswa, dan yang paling rendah media cetak 10 (62,5%) mahasiswa.

Dari 394 mahasiswa yang mengetahui tentang gingivitis, yang memiliki tingkat pengetahuan baik tentang gingivitis yaitu sebanyak 65,7% mahasiswa. Hal ini menandakan bahwa mahasiswa yang mendapati informasi melalui media massa sudah memiliki pengetahuan tentang gingivitis yang baik. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Gholami *et al.* (2014) promosi kesehatan mulut menggunakan media massa dapat memperbaiki sikap, meningkatkan pengetahuan, merangsang minat, serta memfasilitasi perubahan perilaku terutama di negara berkembang. Begitu pula penelitian Saleh *et al.* (2012) yang menunjukkan bahwa bahwa promosi kesehatan melalui media massa dapat meningkatkan kesadaran akan kanker mulut.

Pengetahuan seseorang dapat dipengaruhi berdasarkan beberapa faktor yaitu jenis kelamin, usia, tingkat pendidikan dan status ekonomi. Semakin bertambahnya usia seseorang maka akan semakin berkembang pula daya tangkap serta pola pikirnya, sehingga pengetahuan yang diperoleh juga akan semakin bertambah baik (Notoatmodjo, 2010). Jika

dibandingkan dengan pria, wanita memiliki pengetahuan yang lebih baik, serta semakin tinggi tingkat pendidikan dan status sosial ekonomi seseorang maka semakin baik pengetahuannya (Jain *et al.*, 2014).

Jenis media dalam menyampaikan informasi merupakan faktor eksternal yang mempengaruhi penyerapan informasi. Seseorang menyerap informasi 10% dari yang dibaca, 20% dari yang didengar, 30% dari yang dilihat, 50% dari yang dilihat dan didengar, 70 % dari yang dikatakan, dan 90 % dari yang dikatakan dan dilakukan. Oleh karena itu, semakin banyak indera yang terlibat dalam proses belajar maka akan semakin banyak informasi yang bisa diserap (Nurhidayah, 2010). Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan tingkat pengetahuan melalui internet/media massa, media elektronik dan media cetak. Mahasiswa yang mendapati informasi melalui internet /media sosial sebanyak 66,0% memiliki pengetahuan yang baik, melalui media elektronik 63,6% dan media cetak 62,5%. Perbedaan tingkat pengetahuan ini sejalan dengan penelitian Kamariah dkk. (2017) yang memperlihatkan adanya perbedaan tingkat pengetahuan antar jenis media massa. Walaupun belum ada penelitian yang membandingkan

ketiga jenis media, perbedaan pengetahuan ini bisa disebabkan karena perbedaan jenis pemaparan informasi (audiovisual), banyaknya informasi yang tersedia serta sering tidaknya masyarakat menggunakan jenis media itu.

## SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil dari pembahasan yang telah dijelaskan diatas, dapat ditarik kesimpulan bahwa mahasiswa S1 non fakultas kesehatan UMS yang telah mendapatkan promosi kesehatan memiliki pengetahuan yang baik sebesar 65,7% dan pengetahuan buruk sebanyak 34,4%.

Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh promosi kesehatan dengan berbagai media terhadap tingkat pengetahuan gingivitis mahasiswa non fakultas kesehatan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Muhammadiyah Surakarta.

## DAFTAR PUSTAKA

Akram, W., and Kumar, R., 2017. A Study on Positive and Negative Effects of Social Media on Society. *International J Comput Sci Eng*. Vol. 5, no. 10. Pp: 351-4.

Casanova, L., Hughes, F. J. and Preshaw, P. M., 2014. Diabetes and periodontal disease: A two-way relationship. *Br Dent J*. Vol. 217, no. 8. Pp: 433-7.

Cope, G., 2011. Gingivitis : symptoms , causes and treatment. *Dental Nursing*. Vol 7, no.8. Pp: 436-9.

Gagari E, and Damoulis P, 2011. Desquamative gingivitis as a manifestation of chronic mucocutaneous disease. *J Deutsch Dermatol*. Vol. 9 no. 3. Pp: 184-7

Gholami, M., Pakdaman A., Montazeri A., Jafari A. and Virtanen, J. I., 2014. Assessment of periodontal knowledge following a mass media oral health promotion campaign : a population-based study, *BMC Oral Health*. Vol. 14, no. 31. Pp: 1-7.

Hiremath, V. P., Raob, C. B., Naik, V., and Prasadd, K. V. V., 2013. Anti-inflammatory effect of vitamin D on gingivitis: a dose response randomised controlled trial. *Indian J. Public Health*. Vol. 57, no. 1. Pp: 29-32.

Jain, R., Oswal, K. and Chitguppi, R., 2014. Knowledge, attitude and practices of mothers toward their children's oral health: A questionnaire survey among subpopulation in Mumbai (India). *J. dent. res. sci. dev*. Vol. 1, no. 2. p: 40.

Li, Y., Lee, S., Hujoel, P., Su, M., Zhang, W., Kim, J., Zhang, Y., and Devizio, W., 2010. Prevalence and severity of gingivitis in American adults. *Am J Dent*. Vol. 23, no. 1. Pp: 9-13.

Saleh, A., Yang, Y., Maria, W., Abdullah, N., Geraldine, J., Navonil, R., Ariff, Z., Rahman, A., Mazlipah, S., Abu, N., Rosnah, and Ching, S., 2012. Promoting oral cancer awareness and early detection using a mass media approach. *Asian Pac J Cancer Prev*. Vol. 13, no. 4. Pp: 1217-24.

Kamariah, A., Huriati, dan Hidayah, N., 2017. Perbedaan Efektifitas Pendidikan Kesehatan Tatap Muka dengan Media sosial Terhadap Tingkat Pengetahuan

- Kelurga Dengan Skizofrenia. *Journal of islamic nursing*. Vol. 2, no.2. Pp: 11-9.
- Kementrian Kesehatan RI, 2013. *Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Tahun 2013*. Jakarta.
- Manson, J.D. dan Eley, B.M. 2013. *Buku Ajar Periodonti*. Edisi 2. Jakarta: Hipokrates.
- Mitchell, L., Mitchell, D. A. and McCaul, L.2012. *Kedokteran Gigi Klinik*. 5th ed (terj). Jakarta: EGC
- Nielsen Indonesia. 2017. *Penetrasi Media Televisi Masih yang Tertinggi-Databoks*, Nielsen Indonesia. PT (The Nielsen Company).
- Notoatmodjo, S. 2010. *Promosi Kesehatan: Teori dan Aplikasi*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Nurhidayah, R.E. 2010. *Ilmu Perilaku dan Pendidikan Kesehatan untuk Perawat*. Medan: USU Press.
- Statista. 2019. *Berapa Pengguna Internet di Indonesia?*. Statista.

## COKLAT HITAM MENURUNKAN NYERI *DISMENORE*

### *DARK CHOCOLATE REDUCES DYSMENORRHEA*

**Sri Wahtini, Fristyaningrum Hidayah, Evi Wahyuntari**  
Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Aisyiyah Yogyakarta  
Korespondensi: Sri Wahtini. Email: [wahtini123a@gmail.com](mailto:wahtini123a@gmail.com)

#### **ABSTRAK**

*Dismenore merupakan rasa nyeri perut bawah pada saat menstruasi yang dapat mengganggu aktivitas sehari-hari. Dismenore mempengaruhi aktivitas remaja putri khususnya pelajar sebanyak 52%. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian coklat hitam terhadap penurunan angka nyeri dismenore pada mahasiswa. Jenis penelitian ini menggunakan Quasi –Eksperiment dengan metode pendekatan Non-Equivalent Control Group Design. Jumlah sampel dalam penelitian ini sebesar 34 responden yang dibagi menjadi kelompok kontrol sebanyak 17 responden dan kelompok intervensi sebanyak 17 responden. Teknik pengambilan sampel menggunakan purposive sampling. Tingkat dismenore primer diukur menggunakan Verbal Rating Scale (VRS) dan uji statistik menggunakan Mann Whitney U Test. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian coklat hitam terhadap penurunan angka nyeri dismenore pada mahasiswa kebidanan semester VIII. Nilai p value yang didapatkan sebesar 0,000 ( $p < 0,05$ ). Saran dalam penelitian ini yaitu coklat hitam 100 gram 80% dapat direkomendasikan sebagai pengobatan alternatif dalam menurunkan angka nyeri dismenore primer pada remaja.*

**Kata Kunci:** Coklat Hitam, Dismenore, Nyeri

#### **ABSTRACT**

*Dysmenorrhea is a lower abdominal pain during menstruation that interfere daily activities. Dysmenorrhea affects the activities of young women, especially students as much as 52%. This study aims to determine the effect of dark chocolate administration on decreasing the number of dysmenorrhea pain in the eighth semester Midwifery students. This type of research uses Quasi-Experiment with the Non-Equivalent Control Group Design approach. The number of samples in this study were 34 respondents who were divided into control groups of 17 respondents and the intervention group of 17 respondents. The sampling technique uses purposive sampling. Primary dysmenorrhea levels were measured using Verbal Rating Scale (VRS) and statistical tests using the Mann Whitney U Test. Based on the results of this study it can be concluded that there is an effect of giving dark chocolate to decrease the pain rate of dysmenorrhea in the eighth semester midwifery students. The p value obtained was 0,000 ( $p < 0.05$ ). The suggestion in this study is 100 grams of 80% dark chocolate can be recommended as an alternative treatment in reducing the rate of primary dysmenorrhea pain in adolescents.*

**Keyword:** Dark Chocolate, Dysmenorrhea, Pain

**How To Cite:** Wahtini, S., Hidayah, F., & Wahyuntari, E. (2021). COKLAT HITAM MENURUNKAN NYERI DISMENORE. *Biomedika*, 13(1), 28-35. doi:<https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.10827>

**DOI:** <https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.10827>

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan jumlah penduduk terpadat ke-4 di dunia, dimana jumlah penduduk Indonesia hampir mencapai 300 juta jiwa. Mayoritas penduduk Indonesia terbanyak merupakan usia remaja. Proses tumbuh kembang reproduksi pada remaja ditandai dengan adanya menstruasi. Menstruasi datang setiap bulan pada usia reproduksi, banyak wanita yang mengalami ketidaknyamanan fisik, atau merasa tersiksa saat menjelang atau selama haid berlangsung yang disebut dengan dismenore (Wirawan, 2010).

Menurut WHO (2012) didapatkan kejadian sebesar 1.769.425 jiwa (90%) wanita yang mengalami dismenore dengan 10-15% mengalami dismenore berat. Di Taiwan prevalensi wanita penderita dismenore sebesar 75,2%. Sedangkan di Indonesia, angka kejadian dismenore primer sekitar 54,89%, sedangkan sisanya 45,11 % adalah dismenore sekunder (Yunitasari dkk., 2017). Dampak dismenore bagi remaja yaitu dapat menyebabkan ketidakhadiran pada presensi perkuliahan sebanyak 39,9% (Handayani, 2013). Di Yogyakarta sebanyak 52 % pelajar tidak dapat melakukan aktivitas sehari-hari dengan baik selama mengalami dismenore (Widiyanti 2013).

Dismenore dapat diatasi dengan cara pemberian terapi farmakologi dan non-farmakologi. Terapi farmakologi yaitu pemberian obat-obatan analgesic yaitu obat golongan Nonsteroidal Antiinflammatory Drug (NSAID) yang dapat meredakan rasa nyeri. Penggunaan obat-obatan analgesik memiliki beberapa efek samping seperti mual, muntah, konstipasi, kegelisahan, dan rasa ngantuk (Sari, 2013). Terapi non- farmakologi yaitu seperti kompres air hangat, usapan lembut pada perut (*effleurage massage*), TENS, akupresure, akuputure, aromaterapi, olahraga, herbal hingga perbaikan nutrisi (Lowdermilk *et al.*, 2013). Salah satu terapi non- farmakologi dalam mengatasi nyeri dismenore yaitu dengan perbaikan nutrisi atau zat gizi remaja menggunakan cokelat hitam (*dark chocolate*).

Cokelat hitam memiliki kandungan magnesium yang mampu merelaksasikan otot dan memberikan rasa rileks yang dapat mengendalikan suasana hati yang murung, dimana magnesium merangsang otak untuk mensintesis kolagen dan neurotransmitter untuk melepaskan hormon endorphin. Cokelat hitam juga memiliki beberapa kandungan lain seperti cafein, theobromin, methyl-xanthine dan phenylethylalanine yang dapat mempengaruhi

suasana hati dan mengurangi rasa lelah akibat depresi. Selain itu, coklat hitam memiliki keunggulan lain yaitu kandungan polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas dan sebagai anti inflamasi (Devi, 2012).

Hasil studi pendahuluan pada mahasiswa Kebidanan semester VIII dengan jumlah 20 mahasiswa, terdapat 16 mahasiswa yang mengalami dismenore primer. Para mahasiswa pada saat mengalami dismenore, membiarkan saja rasa nyeri yang mereka alami dan terbiasa mengkonsumsi obat farmakologi seperti parasetamol dan asam mefenamat dan mereka merasa terganggu saat menjalani aktivitas sehari-hari serta sulit untuk berkonsentrasi dalam menerima materi perkuliahan.

## METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah Quasi –Eksperiment. Populasi penelitian ini adalah mahasiswi kebidanan semester VIII yang mengalami nyeri dismenore primer dengan jumlah sebanyak 139 mahasiswi. Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini

menggunakan non-probability sampling dengan teknik purposive sampling sehingga didapatkan sampel sebanyak 34 responden, dimana kelompok kontrol berjumlah 17 responden dan kelompok intervensi berjumlah 17 responden. Kriteria inklusi mahasiswa sem VII, usia 20-25 tahun, sedang mengalami menstruasi dan nyeri dismenorea, bersedia menjadi responden. Kriteria eksklusi mengkonsumsi obat Pereda nyeri, terdiagnosa kelainan ginekologi. Alat ukur yang digunakan untuk mengumpulkan data adalah lembar wawancara dan lembar observasi nyeri *Verbal Rating Scale* (VRS) dan melakukan intervensi pemberian coklat hitam batangan 100 gram 80% selama 3 hari. Uji analisis data menggunakan uji Mann- Withney.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik responden disajikan pada tabel 1. Berdasarkan tabel 1 dapat diketahui bahwa responden pada kelompok kontrol mayoritas berusia 23 tahun yaitu sebanyak 6 responden (35,3%) dan berusia 22 tahun sebanyak 6 responden (35,3%). Sedangkan pada kelompok intervensi mayoritas berusia 23 tahun yaitu sebanyak 12 responden (94,1%).

**Tabel.1 Tabel Karakteristik Responden Dismenore Primer**

Variabel	Kelompok Kontrol		Kelompok Intervensi	
	Frekuensi	%	Frekuensi	%
Umur (tahun)				
21	1	5,9	0	0,0
22	6	35,3	4	23,5
23	6	35,3	12	94,1
24	3	17,6	1	5,9
25	1	5,9	0	0,0
Lama Nyeri <i>Dismenore</i>				
≤ 1 Jam	1	5,9	2	11,8
>1 Jam	12	70,6	9	52,9
≥ 24 Jam	4	23,5	6	35,3
Cara Mengatasi Nyeri				
Jamu	0	0,0	1	5,9
Obat Pereda Nyeri	3	17,6	1	5,9
Dibiarkan	10	58,8	11	64,7
Lainnya	4	23,5	4	23,5
Lokasi Nyeri				
Pinggang	7	41,2	7	41,2
Perut bagian bawah	10	58,8	8	47,1
Menyeluruh	0	0,0	2	11,8

Sumber: Data primer, 2019

Dismenore merupakan nyeri yang dirasakan pada saat menstruasi atau haid yang disebabkan oleh peningkatan produksi prostaglandin dan pelepasan prostaglandin  $F2\alpha$  ( $PGF2\alpha$ ) dari endometrium pada saat menstruasi. Prostaglandin menginduksi kontraksi otot polos dalam rahim, dan juga dalam usus halus, bronkus, dan pembuluh darah. Kontraksi otot uterus menyebabkan tekanan dalam uterus untuk melebihi tekanan sirkulasi sistemik, terjadi iskemia, yang menyebabkan ekuivalen angina dalam uterus (nyeri uterus) (Reeder, 2013).

Menurut Anurogo (2011) kejadian dismenore primer sering terjadi pada wanita

subur yang belum menikah dengan rentang usia 15-25 tahun. Dimana pada usia tersebut terjadi optimalisasi fungsi saraf rahim sehingga fungsi sekresi prostaglandin meningkat yang pada akhirnya menimbulkan rasa nyeri atau sakit saat menstruasi.

Berdasarkan pengkajian yang dilakukan pada kelompok intervensi, mayoritas responden yang mengalami nyeri dismenore primer pada kelompok intervensi berusia 23 tahun. Hal tersebut dapat dilihat pada tabel 4 dimana responden pada penelitian ini yang berada pada kelompok intervensi mayoritas berusia 23 tahun yaitu sebanyak 12 responden (94,1%). Hal ini sejalan dengan penelitian Kumala (2012) yang

menyatakan bahwa pada usis 16-25 tahun terjadi optimalisasi fungsi saraf rahim sehingga sekresi prostaglandin meningkat dan menimbulkan rasa sakit saat dismenore karena pada usia tersebut hormon yang dimiliki masih belum stabil. Rasa nyeri pada dismenore primer terjadi akibat pengeluaran prostaglandin di cairan menstruasi yang mengakibatkan kontraksi uterus dan nyeri. Berdasarkan tabel 1 dapat diketahui responden pada kelompok intervensi memiliki beberapa cara untuk mengatasi nyeri dismenore primer seperti mengkonsumsi jamu sebanyak 1 responden (5,9%), minum obat pereda nyeri sebanyak 1 responden (5,9%), dibiarkan saja sebanyak 11 responden (64,7%), dan menggunakan cara lainnya sebanyak 4 (23,5%). Namun mayoritas responden kelompok intervensi hanya membiarkan rasa nyerinya. Dampak negatif dismenore pada remaja dapat menyebabkan gangguan aktivitas sehari-hari sebesar 52%, ketidakhadiran pada perkuliahan sebanyak 39,9% dan mengganggu konsentrasi belajar sehingga terjadi penurunan

prestasi sebesar 73,4% dibandingkan remaja yang tidak mengalami nyeri dismenore primer (Handayani, 2013).

Usaha untuk mengurangi atau menghilangkan rasa nyeri biasanya menggunakan pengobatan secara farmakologi atau non farmakologi. Cokelat hitam merupakan pengobatan dismenore secara non farmakologi. Cokelat hitam kaya akan kalsium, kalium, natrium, omega 3, omega 6, magnesium, vitamin A, B1, B2, D, E, sedikit cafein dan theoboromin (Wulandari *and* Afriliana, 2017). Kandungan magnesium dalam cokelat hitam mampu merelaksasikan otot dan memberikan rasa rileks yang dapat mengendalikan suasana hati yang murung, dimana magnesium merangsang otak untuk mensintesis kolagen dan neurotransmitter untuk melepaskan hormon endorphin (Devi, 2012). Selain itu kandungan omega 3 dan omega 6 dalam cokelat hitam juga dapat memberikan efek relaksasi pada otot uterus atau rahim (Hansen dan Knudsen, 2013).

**Tabel 2. Karakteristik Nyeri Dismenore**

Skala Nyeri Dismenore	Sebelum		Sesudah	
	Kontrol	Intervensi	Kontrol	Intervensi
Tidak nyeri	0	0	0	0
Nyeri ringan	1	0	0	13
Nyeri sedang	11	14	14	4
Nyeri berat	5	3	3	0

Sumber: Data primer, 2019

Pada tabel 2 dapat diketahui bahwa responden pada kelompok kontrol pada primer dengan kategori nyeri sedang sebanyak 11 responden (64,7%) Sedangkan skala nyeri kelompok kontrol pada pengukuran nyeri yang kedua (sesudah intervensi) memiliki kategori nyeri sedang sebanyak 14 responden (82,4%).

Berdasarkan tabel 2 dapat diketahui bahwa responden pada kelompok intervensi pada pengukuran nyeri yang pertama (sebelum intervensi) memiliki skala nyeri dismenore primer dengan kategori nyeri sedang sebanyak 14 responden (82,4%). Sedangkan skala nyeri kelompok intervensi pada pengukuran nyeri yang kedua (sesudah intervensi) memiliki

pengukuran nyeri yang pertama (sebelum intervensi) memiliki skala nyeri dismenore kategori nyeri ringan sebanyak 13 responden (76,5%).

Sebelum dilakukan penelitian ini responden yang merasakan nyeri dismenore primer pada kelompok kontrol membiarkan rasa nyeri yang dirasakannya, hal ini dapat dilihat pada tabel 1 dimana sebanyak 10 responden (58,8%) dari 17 responden tidak memberikan perlakuan untuk mengatasi nyeri dismenore. Menurut Tamsuri (2017), nyeri haid yang tidak segera diatasi maka akan mengganggu pola tidur, nafsu makan menurun, interaksi dengan orang lain akan terganggu, dan aktivitas terganggu.

**Tabel 3. Penurunan Skala Nyeri Dismenore Pada Kelompok Kontrol**

Kelompok	Mean ±SD	Mean Rank	<i>p</i> value
Kontrol			
Sebelum	2,24± 0,562	9,00	0,655
Sesudah	2,18 ± 0,393	6,00	
Intervensi			
Sebelum	2,18 ± 0,393	8,50	0,000
Sesudah	1,24 ± 0,437	0,00	

Sumber: Data Primer, 2019.

Berdasarkan tabel 3 dapat diketahui bahwa nilai pengukuran nyeri sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok intervensi yang dianalisis menggunakan uji Wilcoxon di peroleh nilai probabilitas (*p* value) sebesar 0,000 (*p*< 0,05). Hal ini menunjukkan bahwa ada

pengaruh pemberian coklat hitam terhadap penurunan skala nyeri dismenore primer pada kelompok intervensi.

Perbedaan pengaruh pemberian coklat hitam terhadap penurunan skala nyeri dismenore pada kelompok kontrol dan

kelompok intervensi disajikan pada tabel 4. Berdasarkan tabel 4 dapat diketahui bahwa ada perbedaan yang signifikan mengenai penurunan tingkat nyeri dismenore pada kelompok kontrol dan kelompok intervensi. Nilai  $p$  yang didapatkan dari uji Man Withney untuk

kelompok kontrol dan kelompok intervensi sebesar 0,000. Oleh karena itu, dapat disimpulkan ada perbedaan pengaruh pemberian coklat hitam terhadap penurunan angka nyeri dismenore pada mahasiswa Kebidanan Semester VIII.

**Tabel 4 Perbedaan penurunan tingkat nyeri dismenore pada kelompok kontrol dan kelompok intervensi**

Kelompok	Mean $\pm$ SD	Mean Rank	$p$ value
Kontrol	1,71 $\pm$ 0,629	24,35	0,000
Intervensi	1,50 $\pm$ 0,508	10,65	

Sumber: Data Primer, 2019.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Utami, dkk (2017), dalam penelitiannya mengatakan bahwa pemberian coklat hitam sebanyak 100 gram terbukti menurunkan tingkat nyeri dismenore primer. Menurut Wahyuni (2018), didapatkan bahwa pemberian coklat hitam sebanyak 75 gram dan 100 gram terbukti menurunkan tingkat nyeri dismenore primer terhadap responden mahasiswi keperawatan dengan nilai  $p=0,002$  yang berarti ada pengaruh yang signifikan antara pemberian dark chocolate terhadap penurunan tingkat nyeri dismenore primer pada mahasiswa keperawatan.

#### SIMPULAN DAN SARAN

Pemberian coklat hitam 100 gram 80% berpengaruh terhadap penurunan angka

nyeri dismenore pada mahasiswa kebidanan semester VIII. Hasil Penelitian ini dapat dijadikan alternatif sebagai penurun nyeri saat dismenore.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Anurogo, D., dan Wulandari, A. 2011. *Cara Jitu Mengatasi Nyeri Haid*. Yogyakarta: Andi Offset.
- Devi, N. 2012. *Gizi saat Sindrom Menstruasi*. Jakarta: PT. Bhuana Ilmu Populer Kelompok Gramedia.
- Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah. 2016. *Profil Kesehatan Provinsi Jawa Tengah*. Semarang: Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah.
- Hansen, S.O., and Knudsen, U.B. 2013. Endometriosis, dysmenorrhoea and diet. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. Jul;169(2). Pp:162-71. doi: 10.1016/j.ejogrb.2013.03.028.
- Reeder, Martin, dan Koniak-Griffin. 2013. *Keperawatan Maternitas Kesehatan Wanita, Bayi & Keluarga Edisi 8 Vol 1*. Jakarta: EGC.

- Sari, W. P. 2013. Efektivitas Terapi Farmakologis dan Non-Farmakologis Terhadap Nyeri Haid pada Siswi XI di SMAN 1 Pemangkat. *Tesis*. Pontianak: Universitas Tanjungpura Pontianak
- Utami, P. P., Isworo, A., Hanafi, M., dan Arifah, S. 2017. Pengaruh Pemberian Dark Chocolate Terhadap Dismenoreia Primer pada Mahasiswa Keperawatan. *Jurnal Keperawatan Soedirman*, Vol.12(2). Pp: 77-83.
- Wahyuni, L. 2018. Pengaruh Konsumsi Coklat Hitam Terhadap Penurunan Tingkat Nyeri Haid (Dismenore Primer) pada Mahasiswi Ilmu Keperawatan STIKES Ranah Minang Padang. *Menara Ilmu*. Vol.7(79). Pp: 73-8.
- Wirawan. 2010. *Konflik dan Manajemen Konflik: Teori Aplikasi dan Penelitian*. Jakarta: Salemba Humanika
- WHO. 2012. *Angka Kejadian Dismenore*. Amerika: WHO.
- Wulandari, S., and Afriliana, F. D. 2017. The Effect of Consumption Dark Chocolate Against Primary Dismenore Pain for Girls Teenager at Kediri 5 High School. *Indian j. med res. Pharm*. Vol.4(2). Pp: 50-63.
- Yunitasari, R., Rejeki, S., dan Khayati, N. 2017. Karakteristik dan Tingkat Stres Siswi dengan Kejadian Dismenore Primer di SMPN 3 Sragi Pekalongan. *Seminar Nasional Pendidikan, Sains dan Teknologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Muhammadiyah Semarang*. Pp: 6-14

## AKTIVITAS ANTIBAKTERI *Lactobacillus paracasei* ASAL AIR SUSU IBU (ASI) TERHADAP BAKTERI PATOGEN

### ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *Lactobacillus paracasei* FROM HUMAN MILK AGAINST PATHOGENIC BACTERIA

Nosa Septiana Anindita

Program studi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta  
Korespondensi: Nosa Septiana Anindita. Alamat email: [nosa.nindita@unisayogya.ac.id](mailto:nosa.nindita@unisayogya.ac.id)

#### ABSTRAK

Aktivitas antibakteri merupakan salah satu kriteria bagi isolat kandidat probiotik untuk dapat diaplikasikan dalam pangan fungsional. Pemanfaatan Air Susu Ibu (ASI) sebagai sumber probiotik didasarkan bahwa ASI merupakan bahan pangan kaya nutrisi yang mengandung human milk oligosaccharide (HMOs) sehingga menghasilkan efek bifidogenik berupa pertumbuhan bakteri menguntungkan, diantaranya adalah kelompok Bakteri Asam Laktat (BAL). Keunggulan BAL asal ASI yaitu memiliki potensi sebagai probiotik sehingga akan diperoleh isolat lokal probiotik terseleksi. Probiotik yang berasal dari manusia seperti ASI, berpeluang besar memiliki viabilitas tinggi dan adaptif pada saluran pencernaan ketika dimanfaatkan sebagai pangan fungsional. Penelitian ini diharapkan memperoleh kultur lokal probiotik asal ASI yang potensial dalam melawan bakteri patogen. Parameter pengujian yang diamati adalah aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh 3 strain *Lactobacillus paracasei* (*L. paracasei*) asal ASI yaitu *L. paracasei* strain AS9, *L. paracasei* strain AS10 dan *L. paracasei* strain AS12. Sebanyak 4 bakteri patogen digunakan dalam pengujian ini, meliputi *Enterococcus faecalis* (*Entr. faecalis*) 99 EF, *Staphylococcus aureus* (*Stph. aureus*) FNCC 0047, *Escherichia coli* (*E. coli*) FNCC 0091 dan *Shigella flexneri* (*S. flexnerii*) ATCC 12022. Aktivitas penghambatan diperoleh dengan mengukur luasan zona bening yang dihasilkan selama proses inkubasi pada suhu 37°C, 48 jam dengan metode sumuran. Berdasarkan hasil pengujian, menunjukkan bahwa *Lactobacillus paracasei* strain AS12 memiliki aktivitas penghambatan tertinggi dengan golongan daya hambat kuat berdasarkan luasan zona bening terhadap 4 bakteri pathogen uji. Sehingga *Lactobacillus paracasei* strain AS12 berpotensi dalam penghambatan bakteri patogen.

**Kata Kunci:** Bakteri Asam Laktat (BAL), Air Susu Ibu (ASI), *L. paracasei*, Antibakteri

#### ABSTRACT

Antibacterial activity is one of the criteria for probiotic candidate isolates to be applied in functional foods. The utilization of human milk as a probiotics source is due to nutrient-rich food containing human milk oligosaccharides (HMOs) to produce a bifidogenic factor growth of beneficial bacteria, including Lactic Acid Bacteria (LAB). The beneficial role LAB isolated from human milk is that it has the potential as a source of local probiotic isolates. Probiotics derived from humans, such as breast milk, are likely to have high viability and adaptability to the digestive tract when used as a functional food. This research is observed local cultures of probiotics from breast milk that have the potential against pathogenic bacteria. The parameters observed were the antibacterial activity of three strains of *Lactobacillus paracasei* (*L. paracasei*) asal ASI yaitu *L. paracasei* strain AS9, *L. paracasei* strain AS10 and *L. paracasei* strain AS12. A total of four pathogenic bacterias were used, including *Enterococcus faecalis* (*Entr. faecalis*) 99 EF, *Staphylococcus aureus* (*Stph. aureus*) FNCC 0047, *Escherichia coli* (*E. coli*) FNCC 0091 and *Shigella flexneri* (*S. flexnerii*) ATCC 12022. Inhibition zone was obtained by measuring the clear zone area produced during incubation at 37°C for 48 h with the well diffusion method. The results showed that *Lactobacillus paracasei* strain AS12 had the highest inhibitory activity with the strong inhibition category based on the clear zone area against the four pathogenic bacterias. So that *L. paracasei* strain AS12 has the potential to inhibit pathogenic bacteria.

**Keywords:** Lactic Acid Bacteria (LAB), Human milk, *L. paracasei*, antibacterial

**How To Cite:** Anindita, N. (2021). AKTIVITAS ANTIBAKTERI *Lactobacillus paracasei* ASAL AIR SUSU IBU (ASI) TERHADAP BAKTERI PATOGEN. *Biomedika*, 13(1), 36-47.  
doi:<https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.10830>

DOI: <https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.10830>

## PENDAHULUAN

Seiring dengan meningkatnya tingkat pendidikan, status sosial ekonomi dan perubahan gaya hidup masyarakat, maka kesadaran pola hidup sehat masyarakat serta kepedulian akan masalah kesehatan meningkat. Konsumsi masyarakat mulai beralih pada pangan fungsional, hal ini menyebabkan permintaan konsumen akan pangan fungsional menjadi semakin meningkat. Pangan fungsional merupakan pangan yang tidak hanya memberikan zat gizi tetapi juga memberikan asupan zat-zat non gizi yang penting untuk kesehatan dan kebugaran. Secara umum pangan fungsional yaitu pangan yang mengandung komponen biologi aktif yang menawarkan manfaat lebih untuk meningkatkan kesehatan dan mengurangi risiko terkena penyakit.

Produk pangan fungsional banyak memanfaatkan aktivitas metabolisme bakteri yang dapat menghasilkan senyawa bioaktif dan membentuk flavour spesifik pada produk pangan fungsional. Bakteri yang sering dimanfaatkan dalam pembuatan produk pangan fungsional berasal dari kelompok Bakteri Asam Laktat (BAL), namun tidak semua BAL dimanfaatkan dalam pangan fungsional. Penggunaan BAL

sebagai salah satu bahan pangan fungsional berupa probiotik sangat marak dewasa ini.

Berbagai upaya dilakukan untuk mengisolasi BAL yang memiliki potensi sebagai probiotik dari berbagai sumber seperti asal ASI. Kriteria isolat BAL sebagai bakteri probiotik diantaranya bersifat non patogenik dan harus mampu bertahan hidup pada saluran pencernaan. Probiotik harus mampu melewati keasaman lambung yang tinggi (pH sekitar 2-3) minimal 90 menit. Karakterisasi sifat-sifat probiotik baik secara *in vitro* dan *in vivo* diperlukan untuk menyatakan bahwa isolat tergolong probiotik. Salah satu kriteria BAL dapat digolongkan dengan probiotik diantaranya adalah adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri yang merugikan. Fungsionalitas probiotik pada produk pangan berdampak dalam meningkatkan kesehatan dengan mempengaruhi keseimbangan mikroflora usus sehingga dapat mengatasi masalah gangguan pencernaan dapat tercapai.

Produk pangan fungsional dengan memanfaatkan aktivitas probiotik menunjukkan pertumbuhan yang pesat dalam kelompok pangan kesehatan dan upaya penelitian intensif sedang dilakukan untuk mengembangkan produk-produk probiotik yang mengandung bakteri probiotik seperti *Lactobacillus* dan

*Bifidobacterium*. Produk probiotik tersebut dapat memodulasi komposisi bakteri dalam usus, sehingga dapat meningkatkan kesehatan usus, diantaranya melalui peningkatan toleransi terhadap laktosa pada penderita *lactose intolerance* atau meningkatkan daya tahan terhadap bakteri patogen (An *et al.*, 2010).

Bakteri probiotik yang banyak dimanfaatkan dalam pangan fungsional berasal dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. *Lactobacillus* terdiri dari 106 spesies, dimana 56 spesies diantaranya memiliki potensi sebagai probiotik. Di sisi lain, *Bifidobacterium* saat ini terdiri dari 30 spesies, dimana 8 diantaranya memiliki potensi probiotik (Otieno, 2011). Probiotik umumnya berasal dari golongan BAL, khususnya genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* yang merupakan bagian dari flora normal saluran pencernaan manusia (Ogunshe *et al.*, 2011). *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* merupakan beberapa genus probiotik yang dapat memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan seperti pencegahan diare, stimulasi sistem kekebalan (*immune*) tubuh, penurunan kadar kolesterol, pencegahan kanker kolon dan usus, pencegahan dermatitis atopik pada anak-anak dan penyakit *irritable bowel syndrome*, penanganan alergi

serta pencegahan dan penanganan penyakit infeksi (Wolwers *et al.*, 2010).

Probiotik dapat memproduksi bakteriosin untuk melawan patogen yang bersifat selektif hanya terhadap beberapa strain patogen. Probiotik juga memproduksi asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, laktoperoksidase, lipopolisakarida, dan beberapa antimikrobia lainnya. Probiotik juga menghasilkan sejumlah nutrisi penting dalam sistem imun dan metabolisme host, seperti vitamin B (Asam Pantotenat), pyridoksin, niasin, asam folat, kobalamin, dan biotin serta antioksidan penting seperti vitamin K. Bahan antibakteri merupakan senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, memusnahkan mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta kerusakan bahan oleh mikroorganisme. Antimikrobia meliputi golongan antibakteri, antimikotik, dan antiviral (Adams and Moss, 2000).

Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona

bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu  $10^5$ - $10^8$  CFU/mL. Pengamatan aktivitas penghambatan atau antibakteri bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteriosin dalam menghambat bakteri target (Hermawan, 2007).

Sebagian besar isolat probiotik berasal dari luar negeri yang berdampak pada tingginya harga produk pangan probiotik. Selama ini probiotik di Indonesia banyak diperoleh dari makanan fermentasi maupun makanan lokal asli daerah serta asal hewan. Sedangkan sumber isolat asal manusia seperti ASI masih jarang digunakan. Keunggulan BAL asal ASI memiliki potensi sebagai probiotik, yang dapat meningkatkan system kekebalan, sehingga akhirnya akan diperoleh isolat lokal probiotik terseleksi yang dapat digunakan sebagai imunostimulan. Probiotik yang berasal dari tubuh manusia sendiri seperti ASI, berpeluang besar memiliki viabilitas tinggi dan adaptif pada saluran pencernaan. Kemampuan probiotik tersebut dapat diaplikasikan dalam pembuatan pangan kesehatan (*Functional Food*) atau pangan kesehatan (*Nutraceutical Food*) yang

memenuhi syarat *Generally Recognized as Safe* (GRAS). Mengonsumsi pangan kesehatan yang mengandung probiotik, akan membantu tubuh dalam menjaga keseimbangan mikroflora saluran pencernaan, sehingga akan menambah nilai guna dari isolat lokal tersebut.

Berdasarkan hal tersebut perlu upaya untuk mendapatkan isolat BAL probiotik indigenus, salah satunya bersumber dari ASI yang memiliki kemampuan dalam penghambatan bakteri patogen. Sehingga perlu dilakukan penelitian terkait pengujian aktivitas antibakteri isolat BAL kandidat probiotik asal ASI. Hasil dari penelitian diharapkan akan memperkaya kultur koleksi lokal Indonesia asal manusia khususnya dari ASI, yang dapat diaplikasikan dalam pangan kesehatan.

## **METODE**

### **Tahapan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian laboratorium yang mencakup beberapa tahap penelitian, yaitu: peremajaan kultur bakteri patogen, preparasi isolat kandidat probiotik, penyiapan media uji, optimasi konsentrasi kultur bakteri patogen dan isolat kandidat probiotik, pengujian aktivitas antibakteri isolat kandidat probiotik kemudian analisis data hasil pengujian.

## Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Susu dan Telur, Bagian Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

## Variabel yang diamati

Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah aktivitas antibakteri dengan bakteri patogen yang digunakan berasal dari kelompok Gram positif dan Gram negatif.

## Rancangan/Methodologi Penelitian

### Peremajaan Kultur Bakteri Patogen.

Sebanyak 4 bakteri patogen digunakan dalam pengujian ini yaitu *Entr. faecalis* 99 EF, *Stph. aureus* FNCC 0047, *E. coli* FNCC 0091 dan *S. flexneri* ATCC 12022. Bakteri patogen yang berasal dari kultur persediaan induk diremajakan dengan cara diambil sebanyak satu ose, diinokulasi dalam media segar agar miring *Nutrient Agar* (NA), diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya sesuai dengan kebutuhan uji antibakteri, bakteri patogen ditumbuhkan kembali pada media cair. Bakteri patogen sebanyak satu ose, diinokulasi dalam media *Nutrient Broth* (NB) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

### Preparasi isolat kandidat Probiotik.

Isolat kandidat probiotik asal ASI yang digunakan pada penelitian ini merupakan hasil isolasi penelitian terdahulu. Pada penelitian terdahulu diperoleh 13 isolat BAL yang terdiri atas 6 *L. paracasei*, 2 *L. casei*, 2 *P. acidilactici* dan masing-masing 2 isolat lainnya adalah *L. plantarum* serta *W. confusa*. Semua isolat BAL yang berhasil diisolasi tersebut memiliki potensi probiotik secara *in vitro* berdasarkan parameter uji yaitu ketahanan terhadap asam lambung (pH 2) dan garam empedu (0,3; 0,5; 1,0 dan 1,5%) dan pemanfaatan prebiotik inulin. Isolat yang digunakan pada penelitian ini yaitu 3 strain *L. paracasei* yaitu *L. paracasei* strain AS9, *L. paracasei* strain AS10 dan *L. paracasei* strain AS12. Isolat tersebut selanjutnya dilakukan peremajaan/*reculture*. Isolat dari kultur persediaan induk diremajakan dengan cara diambil sebanyak satu ose, diinokulasi dalam media cair yaitu *de Man Rogosa Sharpe* (MRS) *broth* yang telah disuplementasi *L-cystein HCl* 0,05% dan *bile salt* 0,15% dalam media. Isolat tersebut kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, kerapatan optik (densitas) bakteri diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm dengan menggunakan blanko *MRS broth*. Selanjutnya dilakukan pemisahan antara

supernatan dengan sel bakteri melalui sentrifugasi pada kecepatan 13.000 rpm selama 15 menit. Selanjutnya supernatan dipindahkan ke dalam *conicle* yang baru dan steril secara aseptis. Supernatan inilah yang nantinya akan dimasukkan ke dalam sumuran untuk dilakukan pengujian antibakteri (Klare *et al.*, 2005).

#### **Penyiapan Media Uji Aktivitas Antibakteri.**

Sebanyak 2 erlenmeyer, 1 erlenmeyer disiapkan dan diisi dengan media NA 1,2% sebanyak 12 ml (sebagai *seed layer*), sedangkan 1 erlenmeyer lagi diisi dengan larutan agar teknis 1,8% sebanyak 15 ml (sebagai *based layer*). Media *based layer* diletakkan pada cawan petri steril, diratakan dan didiamkan hingga memadat. Setelah memadat, dibuat sumuran dengan meletakkan ring berdiameter 1 cm dan kemudian di sekeliling ring dituang *seed layer* yang telah ditambahkan kultur patogen. Sebanyak 5% kultur patogen yang digunakan uji, dimasukkan ke dalam 15 ml media *seed layer*, divortex hingga homogen, dituang pada permukaan media *based layer* yang telah memadat, diratakan, didiamkan hingga memadat.

#### **Pengujian aktivitas antibakteri isolat kandidat probiotik.**

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap patogen dilakukan melalui teknik sumuran (Nuraida *et al.*, 2011). Sebanyak 5% kultur patogen yaitu *Entr. faecalis* 99 EF, *Stph. aureus* FNCC 0047, *E.coli* FNCC 0091 dan *S. flexneri* ATCC 12022 diinokulasikan pada media alas. Setelah memadat, pada sumuran kemudian ditambahkan 200 µl supernatan dari masing-masing isolat kandidat probiotik dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Setelah 48 jam inkubasi, zona penghambatan diukur. Zona bening dengan ukuran lebih dari 2 mm pada sekeliling sumuran diindikasikan sebagai penghambatan positif.

#### **Teknik Pengumpulan Data Dan Analisis Data**

Teknik pengumpulan data pada penelitian ini menggunakan teknik sampling dengan kriteria dan data dianalisis secara deskriptif.

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Kemampuan probiotik dalam penghambatan bakteri patogen memungkinkan bakteri tersebut untuk berkompetisi sehingga mampu mempertahankan keseimbangan mikrobial dalam saluran pencernaan (An *et al.*, 2010). Bakteri patogen yang digunakan dalam pengujian ini yaitu *Stph. aureus* FNCC 0047 dan *Entr. faecalis* 99 EF mewakili bakteri Gram

positif pembentuk spora, sedangkan *E. coli* FNCC 0091 dan *S. flexneri* ATCC 12022 merupakan bakteri Gram negatif.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode sumuran dan diukur zona penghambatan. Hasil uji aktivitas antagonistik 3 isolat *L. paracasei* terhadap bakteri patogen menunjukkan bahwa isolat-

isolat tersebut memiliki aktivitas penghambatan yang beragam (tabel 1). Pengujian dilakukan sebanyak 2 kali ulangan. Antibakteri merupakan senyawa kimia khas yang dihasilkan oleh organisme hidup dalam konsentrasi rendah serta dapat menghambat proses penting didalam suatu mikroorganisme.

**Tabel 1. Rerata Zona Penghambatan (mm) Aktivitas Antibakteri**

Isolat	Bakteri patogen			
	<i>S. flexneri</i>	<i>E. coli</i>	<i>Stph. aureus</i>	<i>Entr. faecalis</i>
<i>L. paracasei</i> strain AS9	8,62	7,45	5,82	5,25
<i>L. paracasei</i> strain AS10	7,62	7,46	6,82	5,36
<i>L. paracasei</i> strain AS12	15,16	15,18	16,13	17,18

Berdasarkan hasil pengukuran zona bening yang terbentuk (tabel 1), menunjukkan bahwa adanya variasi daya hambat berdasarkan masing-masing isolat untuk setiap jenis bakteri patogen. Efektifitas antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: jenis, jumlah, umur dan latar belakang kehidupan bakteri, konsentrasi zat antibakteri, suhu dan waktu kontak serta sifat fisika-kimia substrat (seperti: pH), kadar air, tegangan permukaan, jenis dan jumlah zat terlarut, dan senyawa lainnya) (Frazier and Wetshof, 1988). Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa aktivitas antagonistik terhadap bakteri patogen oleh BAL tidak tergantung dari spesiesnya, sebab strain dari

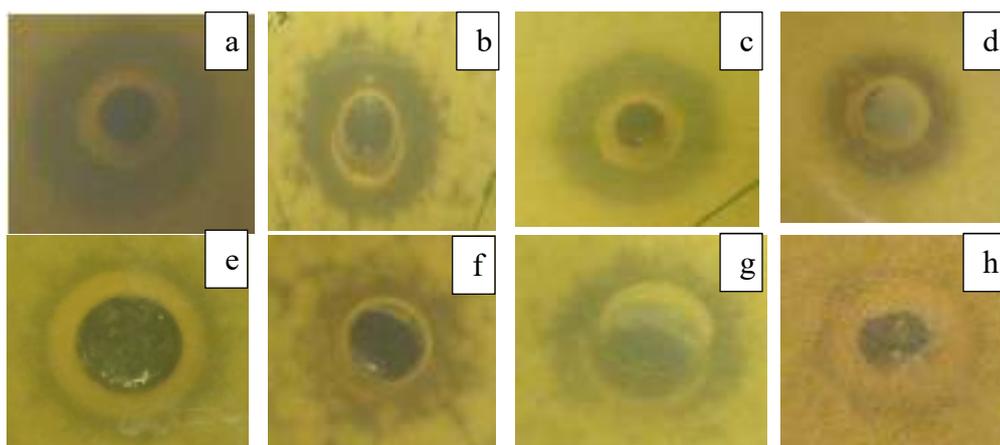
spesies yang sama menunjukkan perbedaan derajat penghambatan. Selain itu juga terlihat bahwa strain yang diisolasi dari jenis yang sama tidak memberikan derajat penghambatan yang sama, dengan demikian aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen oleh BAL bersifat *strain dependent*.

Menurut hasil penelitian (tabel 1) sangat terlihat dengan jelas bahwa *L. paracasei* strain AS12 (gambar 1 dan 3) memiliki daya hambat yang kuat untuk semua jenis bakteri patogen yang digunakan. Isolat *L. paracasei* strain AS12 menunjukkan adanya daya penghambatan rata-rata > 10 mm pada 4 bakteri patogen yaitu *S. flexneri* (15,16±0,18), *E. coli*

(15,18±0,06), *Stph. aureus* (16,13±0,21) dan hambat anti-bakteri dapat dilihat pada tabel 2. *Entr. faecalis* (17,18±0,06). Kriteria daya

**Tabel 2. Kriteria Kekuatan Daya Hambat Anti-bakteri menurut Davis and Stout (1971)**

Tingkat Kekuatan Hambat	Diameter Zona Hambat (mm)
Sangat Kuat	> 20
Kuat	10-20
Sedang	5-10
Lemah	0-5



**Gambar 1. Daya hambat *Lactobacillus Sp.* terhadap bakteri.**

Keterangan: Daya hambat *Lactobacillus paracasei* strain AS12 terhadap *Shigella flexnerii* ATCC 12022 (a), *Enterococcus faecalis* 99 EF (b), *Staphylococcus aureus* (c), dan *Esherichia coli* (d). Daya hambat *Lactobacillus paracasei* strain AS10 terhadap *Shigella flexnerii* ATCC 12022 (e) dan *Enterococcus faecalis* 99 EF (f). Daya hambat *Lactobacillus paracasei* strain AS9 terhadap *Staphylococcus aureus* (g) dan *Esherichia coli* (h).

Berdasarkan hasil pengujian pada tabel 1, hampir semua isolat BAL memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri patogen, akan tetapi hasil bervariasi untuk setiap jenis isolat BAL dan bakteri patogen. Hal ini terlihat bahwa, daya hambat terhadap patogen yang dimiliki *L. paracasei* strain AS9 (gambar 1g dan 1h) dan *L. paracasei* strain AS10 (gambar 1e dan 1f) tergolong sedang untuk ke-4 jenis bakteri patogen uji. Hal ini ditunjukkan bahwa rata-rata diameter zona bening 5-9 mm. Widiana (2012) menyampaikan bahwa

mekanisme penghambatan senyawa antibakteri terhadap pertumbuhan mikrobia dapat terjadi dengan beberapacara, diantaranya: mengganggu pembentukan dinding sel, merusak permeabilitas membran sel sehingga terjadi kebocoran materi intraseluler, menghambat aktivitas enzim dan mengganggu pembentukan asam nukleat (RNA dan DNA) sehingga menyebabkan terganggunya transfer informasi genetik.

Berdasarkan hasil pengukuran zona penghambatan dari ke-3 strain bakteri *L. paracasei* asal ASI, masing-masing strain

menunjukkan kemampuan yang berbeda-beda untuk setiap jenis bakteri patogen walaupun masih dalam satu spesies. Adanya perbedaan kemampuan penghambatan pada *L. paracasei* asal ASI, hal ini menandakan bahwa penghambatan tersebut bersifat *strain dependent*. Sebagai pembanding dengan sumber isolat berasal dari material manusia berdasarkan kemampuan penghambatan terhadap patogen juga disampaikan oleh Bendali *et al.* (2011) bahwa *Lactobacillus paracasei subsp. Paracasei* yang diisolasi dari feses bayi yang baru lahir memiliki penghambatan yang kuat terhadap *Stph. aureus* S<sub>3</sub> dengan zona hambat 20 mm. Beberapa genus probiotik lainnya yang berasal dari material manusia juga dilaporkan memiliki aktivitas antimikrobia. Verdenelli *et al.* (2009) melaporkan bahwa *Lactobacillus paracasei* IMC502 yang berhasil diisolasi dari feses manusia (orang dewasa dengan pemberian makanan yang diatur) memiliki penghambatan terhadap *C. albicans*.

Savino *et al.* (2011) juga melaporkan mengenai kemampuan penghambatan patogen oleh genus *Lactobacillus* dan *Pediococcus* yang diisolasi dari feses manusia dan saluran pencernaan. Studi mengenai *L. plantarum* MB 456 yang diisolasi dari feses bayi yang masih

mengonsumsi ASI dilaporkan memiliki kemampuan antagonistik terhadap bakteri patogen *E. coli* CG 15b (8,33±0,89 mm), *K. oxytoca* GC Y (7,75±0,76 mm), *Entr. faecalis* GC W (8,16±0,56 mm), *Entr. aerogenes* GC K (7,25±0,25 mm), dan *Entr. cloacae* CG 6a (7,05±0,35 mm) yang ditunjukkan dengan zona penghambatan.

Hal lain juga disampaikan oleh Ogunshe *et al.* (2011) bahwa *Lactobacillus* sp yang diisolasi dari feses bayi yang masih mengonsumsi ASI memiliki kemampuan antibakteri pada *E. coli* NTCC 11560 dengan zona hambat sebesar 18 mm. Hasil lain dikemukakan oleh Nawaz *et al.* (2011) bahwa *L. fermentum* NWS29 yang diisolasi dari feses bayi yang masih mengonsumsi ASI menunjukkan penghambatan terhadap *E. ATCC25922*, *S. dysenteriae* CMCC51383, *Stph. aureus* ATCC 25923 dengan zona hambat > 4 mm. Anindita (2013) menyampaikan hasil pengujian penghambatan bakteri patogen menunjukkan aktivitas yang beragam dari masing-masing isolat, walaupun merupakan spesies yang sama. Penghambatan terbesar terhadap *Stph. aureus* FNCC 0047 ditunjukkan oleh isolat *P. acidilactici* strain AA, penghambatan terhadap *Entr. faecalis* 99 EF ditunjukkan oleh isolat *L.*

*casei* strain AG. Sedangkan isolat *L. casei* strain AP menunjukkan penghambatan terbesar terhadap *S. flexneri* ATCC 12022 dan isolat *L. casei* strain AF menunjukkan penghambatan terbesar terhadap *E. coli* FNCC 0091.

Beberapa penelitian lainnya juga telah melaporkan potensi aktivitas antimikrobia dari *L. paracasei* yang diisolasi dari produk pangan fermentasi. Liasi *et al.* (2009) menyampaikan bahwa *L. paracasei* LA02 yang diisolasi dari produk fermentasi ikan tradisional yaitu Budu memiliki penghambatan yang sangat kuat (15-18 mm) terhadap *B. cereus* ATCC 17781, *Stph. aureus* ATCC 25923, *S. enterica* ATCC 1331 dan *L. monocytogenes* ATCC 15313. Islam *et al.* (2021) menyampaikan bahwa *L. paracasei ssp. paracasei-1* yang diisolasi dari produk susu fermentasi yaitu yogurts lokal asal daerah Khulna, Bangladesh memiliki aktivitas antimikrobia. *L. paracasei ssp. paracasei-1* memiliki efek penghambatan terhadap 6 bakteri pathogen yaitu *E. coli*, *V. cholerae*, *S. dysenteriae*, *Str. paratyphi*, *Str. epidermis* dan *Str. pyogenes*.

Potensi *L. paracasei* asal produk pangan fermentasi juga dilaporkan oleh Lozo *et al.* (2004) melaporkan *L. paracasei subsp. paracasei* BGBUK2-16 yang diisolasi dari

produk fermentasi tradisional di Serbia yaitu keju acar putih memiliki aktivitas antimikrobia pada beberapa bakteri patogen uji. Aktivitas penghambatan tersebut bervariasi terhadap *Salmonella sp.* (> 4 mm), *P. aeruginosa* ATCC 27853 (> 4 mm), *E. coli* ATCC 25922 (< 2 mm), *B. cereus* ATCC 11778 (> 4 mm), *Str. faecalis* ATCC 29212 (2-4 mm), *Str. pneumoniae* ATCC 49619 (> 4 mm), *Micrococcus flavus* ATCC 10240 (> 4 mm) dan *B. fragilis* ATCC 25285 (< 2 mm). Penelitian yang dilakukan oleh Coman *et al.* (2014) menyampaikan bahwa salah satu probiotik komersial *L. paracasei* IMC 502<sup>®</sup> memiliki kemampuan penghambatan yang bervariasi pada jenis patogen yang berbeda. Variasi aktivitas penghambatan ini terjadi pada *Str. mutans* ATCC 20523 (15 mm), *Stph. aureus* ATCC 25923 (30 mm), *B. cereus* DSM 345 (25 mm), *C. albicans* ATCC 10261 (> 30 mm) dan *S. enterica* DSM 14221 (15 mm).

## SIMPULAN DAN SARAN

Isolat BAL *L. paracasei* strain AS12 merupakan kandidat probiotik potensial dalam pengujian penghambatan terhadap 4 bakteri patogen uji yaitu *Entr. faecalis* 99 EF, *Stph. aureus* FNCC 0047, *E. coli* FNCC 0091 dan *S. flexneri* ATCC 12022. Isolasi dan identifikasi molekuler senyawa antibakteri yang dimiliki

oleh *L. paracasei* strain AS12 asal ASI perlu dilakukan, untuk mengetahui jenis senyawa antibakteri secara spesifik.

## PERSANTUNAN

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada LLDIKTI Wilayah V yang telah mendanai penelitian ini melalui skema Penelitian Dosen Pemula (PDP), Program Bantuan Dana Penelitian DIPA LLDIKTI Wilayah V tahun 2017 berdasarkan Surat Keputusan Nomor 1496 /K5/KM/2018 tanggal 31 Mei 2018.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adams, M.R., and Moss, M.O. 2000. *Food Microbiology*. 2<sup>nd</sup> Edition. Royal Society of Chemistry. United Kingdom
- An, H.M., Baek, E.H., Jang, S., Lee, D.K., Kim, M.J., Kim, J.R., Lee, K.O., Park, J.G., and Ha, N.J. 2010. Efficacy of Lactic Acid Bacteria (LAB) supplement in management of constipation among nursing home residents. *J. Nutr.* 9: 5-14.
- Anindita, N.S. 2013. Identifikasi dan Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat Potensi Probiotik Pensintesis *Conjugated Linoleic Acid* (CLA). Tesis. Pasca Sarjana. Universitas Gadjah Mada.
- Bendali, F., Nassim, M., and Djamila, S. 2011. Beneficial effects of a strain of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* in *Staphylococcus aureus*-induced intestinal and colonic injury. *International Journal of Infectious Diseases*. 15 (11): 787-794.
- Coman, M.M., Verdenelli, M.C., Cecchini, C., Silvi, S., Orpianesi, C., Boyko, N., and Cresci, A. 2014. In vitro evaluation of antimicrobial activity of *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501(®), *Lactobacillus paracasei* IMC 502(®) and SYN BIO(®) against pathogens. *Journal of Applied Microbiology*. 117: 518-527.
- Davis, W.W. and T.R Stout. 1971. Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. *J. Microbiology*. 4. Pp: 659-65.
- Frazier, W.C., and Westhoff, D.C. 1988. *Food Microbiology* 4<sup>th</sup> edition. McGraw Hill Book Company, New York.
- Hermawan A. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Disk, *Artikel Ilmiah*, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga Surabaya.
- Islam, T., Farah, S., Emdadul, I.M., Morsaline, M.B., and Didarul, I.K.M. 2012. Analysis of Antimicrobial Activity of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*-1 Isolated from Regional Yogurt. *International Research Journal of Applied Life Sciences (IRJALS)*. 1 (4): 80-89.
- Klare, I., Konstabel, C., Muller-Bertling, S., Reissbrodt, R., Huys, G., Vancanneyt, J.M., Swings, H., and Witte, W. 2005. Evaluation of new broth media for microdilution antibiotic susceptibility testing of *Lactobacilli*, *Pediococci*, *Lactococci*, and *Bifidobacteria*. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(12): 8982-8986.
- Liasi, S.A., Azmi, T.I., Hassan, M.D., Shuhaimi, M., Rosfarizan, M., and Ariff, A.B. 2009. Antimicrobial activity and antibiotic sensitivity of three isolates of lactic acid bacteria from fermented fish product, Budu. *Malay. Journal of Microbiology*. 5: 33-37.
- Lozo, J., Maja, V., Ivana, S., and Ljubisa, T. 2004. Characterization and Antimicrobial Activity of Bacteriocin 217 Produced by Natural Isolate *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* BGBUK2-16. *Journal of Food Protection*. 67 (12): 2727-2734.
- Nawaz, M., Wang, J., Zhou, A., Ma, C., Wu, X., and Xu, J. 2011. Probiotic *lactobacilli* from breast-fed healthy babies in

- Pakistan. *African J. Microbiol. Res.* 5(12): 1428-1436.
- Nuraida, L., Winarti, S., Hana., dan Prangdimurti, E. 2011. Evaluasi in vitro terhadap kemampuan bakteri asam laktat asal air susu ibu untuk mengasimilasi kolesterol dan mendekongugasi garam empedu. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan.* 22(1): 46-52.
- Ogunshe, A.A.O., Sanni, A.I., and Olukoy, D.K. 2011. Potential probiotics from faecal specimens of breastfed Nigerian infants as a therapy for bacterial gastroenteritis. *Sri Lanka J. Child Health.* 40(3): 116-124.
- Otieno, D.O. 2011. Biology of Prokaryotic Probiotics. In M.T. Liong (Ed.) *Probiotics, Microbiology Monographs.* Berlin: Springer-Verlag. 21: 1-25.
- Savino, F., Cordisco, L., Tarasco, V., Locatelli, E., Gioia, D.D., Oggero, R., and Matteuzzi, D. 2011. Antagonistic effect of *Lactobacillus* strains against gas-producing coliforms isolated from colicky infants. *BMC Microbiol.* 11: 157-169.
- Verdenelli, M.C., Francesca, G., Stefania, S., Carla, O., Cinzia, C., and Alberto, C. 2009. Probiotic properties of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus paracasei* isolated from human faeces. *European Journal of Nutrition.* 48: 355–363.
- Widiana, R. 2012. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Daun Teh (*Camelia sinensis* L.) pada *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. *e-Jurnal Pelangi STKIP PGRI Sumbar.* 4 (2): 1–12.
- Wolvers, D., Antonie, J.M., Myllyluoma, E., Schrezenmeir, J., Szajewska, H., and Rijkers, G.T. 2010. Guidance for Substantiating the Evidence for Beneficial Effects of Probiotics: Prevention and Management of Infections by Probiotics. *J. Nutr.* 140(3): 698-712

## AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ENDOFIT ASAL AKAR CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

### ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF ENDOPHYTIC BACTERIA FROM CIPLUKAN ROOT (*Physalis angulata* L.) FOR *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli*

Ika Afifah Nugraheni, Heni Setianah, Doddy Sulistiawan Wibowo

Program Studi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

Korespondensi: Ika Afifah Nugraheni. Alamat email: [ikaafifah@unisayogya.ac.id](mailto:ikaafifah@unisayogya.ac.id)

#### ABSTRAK

Ciplukan (*Physalis angulata* L.) merupakan tanaman herbal yang mengandung berbagai manfaat bagi kesehatan manusia, termasuk bagian akar. Manfaat lain yang dimiliki akar tanaman ciplukan masih perlu dieksplorasi, termasuk dengan kemampuan bakteri endofit yang hidup di dalam jaringan tanaman. Hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri endofit dengan tanaman memungkinkan bakteri dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan tanaman inangnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menguji potensi aktivitas antibakteri dari bakteri endofit asal akar tanaman ciplukan terhadap bakteri patogen, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Total enam isolat bakteri endofit yang digunakan merupakan hasil isolasi dari akar tanaman ciplukan pada penelitian sebelumnya. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram atau Kirby Bauer, yaitu dengan menghitung diameter zona hambat koloni terhadap bakteri patogen. Sebanyak empat isolat menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *S. aureus*. Nilai hambat terbesar dimiliki oleh isolat AR21 yaitu sebesar  $1,6 \pm 0,5$  mm. Meskipun demikian, semua isolat tidak membentuk zona penghambatan terhadap *E. coli*. Hasil ini mengindikasikan bahwa bakteri endofit dari akar tanaman ciplukan memiliki potensi dalam menghasilkan senyawa antibakteri terhadap bakteri patogen dari kelompok gram positif, yang diwakili oleh *S. aureus*. Bakteri endofit tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen gram negatif, *E. coli*.

**Kata Kunci:** Akar Ciplukan; Bakteri Endofit; Aktivitas Antibakteri; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*

#### ABSTRACT

Ciplukan (*Physalis angulata* L.) is herbal plant that contains various benefits for human health, including the roots. The other benefits of ciplukan roots still need to be explored, including the ability of endophytic bacteria that live in plant tissues. The symbiotic relationship of mutualism between endophytic bacteria and plants allows bacteria to produce the same bioactive compounds as their host plants. This study aims to isolate and test the potential antibacterial activity of endophytic bacteria from ciplukan roots against pathogenic bacteria, i.e. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Total of six endophytic bacterial isolates used were the result of ciplukan roots isolation in the previous studies. Antibacterial activity was carried out using the disc diffusion or Kirby Bauer method, by calculating the diameter of inhibitory zone against pathogenic bacteria. A total of four isolates showed inhibitory activity against *S. aureus*. The largest inhibitory zone was AR21 isolate with value  $1.6 \pm 0.5$  mm. However, all isolates did not form inhibition zone against *E. coli*. These results indicated that endophytic bacteria from ciplukan roots have potential to produce antibacterial compounds against pathogenic bacteria from gram-positive group, represented by *S. aureus*. Endophytic bacteria did not show antibacterial activity against gram-negative pathogenic bacteria, *E. coli*.

**Keywords:** Ciplukan Roots, Endophytic Bacteria, Antibacterial Activity, *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*

**How To Cite:** Nugraheni, I., Setianah, H., & Wibowo, D. (2021). AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ENDOFIT ASAL AKAR CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*. *Biomedika*, 13(1), 48-55. doi:<https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.11009>

**DOI:** <https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.11009>

## PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara tropis telah dianugerahi beragam komoditas tanaman yang berpotensi sebagai obat tradisional, salah satunya yaitu tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.). Berdasarkan berbagai penelitian ilmiah, ekstrak tanaman ciplukan mempunyai aktivitas sebagai antihiperlipidemi, antimikrobia, antivirus, imunostimulan dan immunosupresan (imunomodulator), antiinflamasi, antioksidan, dan sitotoksik (Latifah *et al.*, 2014). Eksplorasi untuk menemukan aktivitas lainnya perlu dilakukan salah satunya dengan mengisolasi bakteri endofit dari tanaman ciplukan.

Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan gejala penyakit bagi tanaman tersebut (Hardoim *et al.*, 2008). Suatu bakteri disebut sebagai bakteri endofit apabila minimal salah satu fase dari siklus hidupnya berkembang biak di dalam jaringan tanaman. Proses kolonisasi bakteri endofit berawal dari bagian perakaran, selanjutnya menyebar ke seluruh bagian tanaman seperti batang, daun, buah maupun biji (Kandel *et al.*, 2017). Simbiosis yang terbentuk antara bakteri endofit dengan tanaman inang berupa hubungan mutualisme. Bentuk simbiosis ini antara lain menyediakan

nutrisi yang dibutuhkan tanaman, meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui modulasi hormon pertumbuhan maupun menghambat pertumbuhan fitopatogen melalui mekanisme kompetisi nutrisi, mekanisme pertahanan tanaman maupun produksi senyawa enzim dan antibiotik (Ma *et al.*, 2016; Miliute *et al.*, 2015).

Bakteri endofit umumnya menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inang. Salah satu teori yang mendukung hal tersebut yaitu adanya transfer material genetik atau *horizontal gene transfer* dari tanaman inang ke bakteri endofit (Ludwig-Müller, 2015). Jenis transfer genetik inilah yang memungkinkan terjadinya perpindahan gen penyandi metabolit tertentu dalam proses evolusinya. Oleh karena itu, bakteri endofit berpotensi untuk dikembangkan dalam rangka menggali kemampuan dan aktivitasnya.

Beberapa studi mengenai kemampuan bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman obat telah dilakukan. Bakteri endofit yang diisolasi dari bagian umbi tanaman herbal sambung nyawa (*Gynura procumbens*) diketahui mempunyai kemampuan sebagai antimikrobia terhadap *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp. dan *Bacillus subtilis*

(Simarmata *et al.*, 2007). Selain itu, sebanyak 14 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) dan 3 di antaranya mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (Magharaniq *et al.*, 2014).

Sejauh ini, penelitian mengenai kemampuan aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh bakteri endofit dari tanaman ciplukan belum pernah ada. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi bakteri endofit dari akar tanaman ciplukan sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli*. Hal ini perlu dilakukan untuk mengeksplorasi dan melakukan penapisan awal kemampuan antibakteri baru dari sumberdaya lokal Indonesia.

## **METODE**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta selama bulan Agustus-November 2019. Rancangan penelitian berupa eksperimental laboratorium. Variabel bebas dari penelitian ini yaitu bakteri endofit dari akar ciplukan, sedangkan variabel terikat berupa diameter zona hambat terhadap bakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli*.

## **Alat dan Bahan**

Sebanyak enam isolat bakteri endofit dari akar tanaman ciplukan yang diperoleh dari hasil penelitian pendahuluan sebelumnya telah disiapkan sebagai isolat uji. Kode isolat tersebut yaitu AR11, AR12, AR21, AR31, AR33, AR34. Peremajaan bakteri endofit dilakukan menggunakan media *Tryptic Soy Agar* (TSA). Bahan lain yang digunakan antara lain medium *Tryptic Soy Broth* (TSB), kandistatin, alkohol 70%, aquades, kloramfenikol serta bakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli* (kultur koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta).

Alat-alat yang digunakan selama penelitian antara lain cawan petri, tabung reaksi, batang L, autoklaf, *biological safety cabinet*, oven, inkubator, dan kertas saring yang dibentuk bulat (kertas cakram).

## **Uji Aktivitas Antibakteri**

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menuangkan suspensi bakteri *S. aureus* dan *E. coli* sebanyak 100 µl ke dalam cawan petri yang berisi media TSA dengan penambahan larutan kandistatin 0,02% b/v dan diratakan menggunakan batang L. Cawan petri yang sudah dituangi bakteri patogen tersebut selanjutnya dibagi menjadi beberapa bidang untuk pengujian, meliputi uji untuk isolat bakteri

endofit, kontrol positif, dan kontrol negatif. Kontrol positif menggunakan kloramfenikol, sedangkan kontrol negatif menggunakan aquades steril dengan volume masing-masing 20 µl. Kertas saring steril berbentuk cakram diletakkan di tengah bidang pembagian. Isolat bakteri endofit diinokulasikan ke kertas saring steril sebanyak 20 µl. Cawan petri yang telah dinokulasi selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat yang diamati setelah inkubasi 1-2 hari (Simarmata, Lekatompessy and Sukiman, 2007). Zona hambat ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram (Oktavia dan Pujiyanto, 2018).

### **Teknik Pengumpulan Data**

Data yang diperoleh berupa diameter zona hambat terhadap bakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli*. Diameter daerah zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong ataupun penggaris dan dihitung menggunakan rumus Konsentrasi Hambat Minimal (KHM). KHM adalah diameter zona bening (mm) dikurangi diameter kertas cakram (mm).

### **Analisis dan Interpretasi Data**

Analisis kriteria kekuatan daya antibakteri dikelompokkan menjadi 4 kategori yaitu: diameter zona hambat kurang dari 5 mm

yang dikategorikan lemah, diameter zona hambat sebesar 5-10 mm dikategorikan sedang, diameter zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan diameter lebih dari 20 mm dikategorikan sangat kuat (Isnietty, 2010).

Data hasil pengujian aktivitas antibakteri yang diperoleh dianalisis dengan mencari nilai rerata (*mean*) dari setiap ulangan. Kemudian, nilai standar deviasi (SD) dihitung dari rerata masing-masing isolat.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Bakteri endofit yang digunakan merupakan hasil isolasi penelitian sebelumnya dari akar ciplukan. Bagian akar umumnya mengandung bakteri endofit dalam jumlah yang lebih besar dibandingkan dengan bagian tajuk tanaman (Afzal *et al.*, 2019). Hal ini berhubungan dengan proses kolonisasi bakteri endofit yang dimulai dari bagian perakaran dan menyebar ke seluruh bagian tanaman. Selain dari ciplukan, bakteri endofit dapat diisolasi dari berbagai jenis tanaman inang dan berbagai bagian tanaman, seperti bagian akar, batang, daun, biji, buah, maupun umbi akar. Bakteri endofit hidup dan berkembang di dalam pembuluh vaskular maupun ruang antar sel dari bagian-bagian tanaman tersebut.

Sebanyak empat isolat bakteri endofit dari akar ciplukan menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* (tabel 1). Zona hambat terbesar dimiliki oleh kode isolat AR21 dengan nilai rerata 1,6±0,5 mm. Dua isolat bakteri endofit tidak membentuk zona hambat terhadap *S. aureus*, yaitu dengan kode isolat AR11 dan AR34.

**Tabel 1. Diameter Zona Hambat Bakteri Endofit Terhadap *S. aureus***

Kode isolat	Ulangan (mm)			Rerata ± SD (mm)
	1	2	3	
AR11	0	0	0	0
AR12	1	1	0	0,7±0,5
AR21	2	2	1	1,6±0,5
AR31	1	1	0,5	0,8±0,2
AR33	1	1	0,5	0,8±0,2
AR34	0	0	0	0
Kontrol positif				30
Kontrol negatif				0

Ket: SD=standar deviasi

Semua isolat uji mempunyai nilai standar deviasi yang lebih kecil dibandingkan nilai rerata ulangannya. Nilai standar deviasi berfungsi untuk mengetahui sebaran data dari setiap ulangan yang dilakukan. Hal ini menunjukkan bahwa data antar ulangan uji aktivitas antibakteri mempunyai nilai kesenjangan yang kecil, sehingga data dianggap representatif.

Berdasarkan pengujian antibakteri terhadap *E. coli*, semua isolat menunjukkan hasil yang negatif atau tidak terbentuk zona hambat (tabel 2). Zona hambat hanya terbentuk

pada kontrol positif, yaitu kloramfenikol sebesar 22 mm.

**Tabel 2. Diameter Zona Hambat Bakteri Endofit Terhadap *E. coli***

Kode isolat	Ulangan (mm)			Rerata dengan nilai SD (mm)
	1	2	3	
AR11	0	0	0	-
AR12	0	0	0	-
AR21	0	0	0	-
AR31	0	0	0	-
AR33	0	0	0	-
AR34	0	0	0	-
Kontrol positif				22
Kontrol negatif				0

Ket: SD=standar deviasi

Kontrol positif pada kedua uji bakteri patogen menggunakan kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan salah satu jenis antibiotik berspektrum luas yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif. Pada kedua pengujian bakteri patogen, kontrol positif kloramfenikol memberikan hasil zona penghambatan lebih dari 20 mm.

Aktivitas antibakteri bakteri endofit dari akar ciplukan diujikan pada 2 jenis bakteri patogen yang mewakili kelompok gram bakteri. Kelompok bakteri gram positif diwakili *S. aureus*, sedangkan kelompok gram negatif diwakili oleh bakteri *E. coli*. Kedua bakteri patogen tersebut bersifat merugikan bagi manusia, bahkan tanpa disadari terdapat dalam berbagai produk makanan maupun jamu yang dianggap sebagai produk kesehatan (Nugraheni,

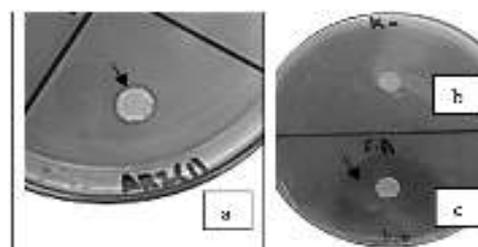
2019). Perbedaan keduanya antara lain terletak pada komposisi struktur dinding selnya.

Pada penelitian ini, bakteri endofit hanya memberikan hasil positif penghambatan terhadap bakteri patogen pada kelompok gram positif, *S. aureus*. Hal yang sama dilaporkan pada penelitian lain di mana bakteri endofit dari tanaman tapak dara (*Catharanthus roseus* L.) memiliki aktivitas penghambatan lebih tinggi terhadap bakteri gram positif, *S. aureus*, dibandingkan dengan *E. coli* (Oktavia dan Pujiyanto, 2018). Selain itu, aktivitas antibakteri yang dimiliki senyawa flavonoid dari tanaman ciplukan memberikan penghambatan yang lebih efektif terhadap bakteri patogen *S. aureus* dibandingkan *E. coli*, dengan menunjukkan aktivitas penghambatan tergolong kuat terhadap *S. aureus* (Isnietty, 2010). Aktivitas antibakteri senyawa flavonoid ciplukan menghasilkan diameter zona hambat sebesar 13 mm terhadap *S. aureus* (Isnietty, 2010). Oleh karena itu, dimungkinkan bakteri endofit juga memiliki aktivitas antibakteri yang hampir sama dengan senyawa flavonoid dari tanaman ciplukan.

Ditinjau dari struktur dinding selnya, kelompok gram positif hanya memiliki 1 lapisan dinding sel yang tersusun dari peptidoglikan

di mana dinding sel terdiri dari 2 lapisan, yaitu lapisan membran luar yang tersusun dari lipopolisakarida dan lapisan lain berupa peptidoglikan. Beberapa senyawa antibakteri mempunyai mode aksi berupa penghambatan sintesis lapisan peptidoglikan, menghambat sintesis protein, maupun menghambat lintasan metabolisme (Allison and Lambert, 2014). Meskipun demikian, mode aksi dari senyawa yang diekskresikan oleh bakteri endofit belum diketahui dan masih perlu dilakukan penelitian lanjut.

Hasil positif pada pengujian antibakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening atau zona hambat di sekitar kertas cakram (gambar 1). Zona hambat tersebut mengindikasikan bahwa bakteri endofit menghasilkan senyawa aktif yang dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen. Diameter zona bening yang terbentuk bervariasi tergantung pada jenis isolat bakteri endofit dan bakteri patogennya.



**Gambar 1.** Visualisasi pembentukan zona hambat terhadap *S. aureus*. a) bakteri endofit kode isolat AR21, b) kontrol negatif, c) kontrol positif. Tanda panah menunjukkan zona hambat.

Kekuatan daya hambat keempat isolat bakteri endofit terhadap *S. aureus* termasuk rendah, karena diameter zona hambat kurang dari 5 mm. Hasil uji kontrol positif kloramfenikol memberikan zona hambat sebesar 30 mm. Begitu pula kontrol positif terhadap *E. coli* juga memberikan zona hambat 22 mm. Hal ini mengindikasikan bahwa kloramfenikol memiliki zona penghambatan yang sangat kuat. Pembentukan zona hambat pada pengujian aktivitas antibakteri dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain kandungan senyawa antibakteri dan jenis bakteri patogen (Isnietty, 2010).

Isolat bakteri endofit tidak membentuk zona hambat terhadap patogen bukan berarti tidak memiliki aktivitas antibakteri. Hal ini kemungkinan dikarenakan isolat tersebut mempunyai kandungan senyawa aktif antibakteri dalam jumlah yang sangat rendah, atau mungkin juga memiliki kandungan senyawa potensial lainnya (Simarmata *et al.*, 2007). Oleh karena itu, eksplorasi senyawa antibakteri tetap perlu dilakukan.

Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni mengindikasikan adanya kemampuan aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh bakteri endofit dari akar tanaman ciplukan. Aktivitas ini

kemungkinan berupa kemampuan mensekresikan senyawa antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E. coli* maupun *S. aureus*. Meskipun demikian, optimasi produksi senyawa bioaktif oleh bakteri endofit masih diperlukan untuk memaksimalkan aktivitasnya sebagai antibakteri.

## SIMPULAN DAN SARAN

Sebanyak empat isolat bakteri endofit dari tanaman ciplukan dengan kode isolat AR12, AR21, AR31, dan AR33, memberikan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat terhadap bakteri *S. aureus*. Meskipun demikian, semua isolat bakteri endofit memberikan hasil uji negatif, atau tidak terbentuk zona hambat terhadap *E. coli*. Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk mengidentifikasi spesies isolat, karakterisasi senyawa yang dihasilkan, dan optimalisasi aktivitas antibakteri dari bakteri endofit yang diisolasi dari akar ciplukan.

## PERSANTUNAN

Kami mengucapkan terima kasih kepada LPPM Universitas 'Aisyah Yogyakarta, serta Direktorat Riset dan Pengabdian kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset,

Teknologi, dan Pendidikan Tinggi atas Dana Riset Hibah Bersaing DIKTI Tahun 2018.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Afzal, I. Shinwari, Z.K., Sikandar, S. and Shahzad, S. 2019. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiol Res.* 221(April 2018). Pp: 36–49. doi: 10.1016/j.micres.2019.02.001.
- Allison, D. G. and Lambert, P. A. 2014. *Modes of Action of Antibacterial Agents, Molecular Medical Microbiology: Second Edition.* Elsevier Ltd. doi: 10.1016/B978-0-12-397169-2.00032-9.
- Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S. and Elsas, J. D. van. 2008. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends Microbiol.* 16(10). Pp: 463–471. doi: 10.1016/j.tim.2008.07.008.
- Isnietty. 2010. Isolasi dan Uji Antibakteri Flavonoid Dari Daun Ciplukan (*Physalis minima* Linn. *Eksakta.* 2(11). Pp: 95–102.
- Kandel, S., Joubert, P. and Doty, S. 2017. Bacterial Endophyte Colonization and Distribution within Plants. *Microorganisms.* 5(4), P: 77. doi: 10.3390/microorganisms5040077.
- Latifah, N., Hidayati, A.A., Yunas, S.R., dan Sulistyorini, E. 2014. Ciplukan (*Physalis angulata* L.). *Encyclopedia of Anticancer Plant.* P: 193. Available at: [http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/en/?page\\_id=193](http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/en/?page_id=193).
- Ludwig-Müller, J. 2015. Plants and endophytes: equal partners in secondary metabolite production?. *Biotech Lett.* 37(7). Pp: 1325–1334. doi: 10.1007/s10529-015-1814-4.
- Ma, Y. Rajkumar M, Zhang C, Freitas H. 2016. Beneficial role of bacterial endophytes in heavy metal phytoremediation. *J Environ Manag.* Elsevier Ltd. 174. Pp: 14–25. doi: 10.1016/j.jenvman.2016.02.047.
- Purwanto, U.M.S., Pasaribu, F.H., dan Bintang M. 2014. Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Curr. Biochem.* 1(1). Pp: 45–50. doi: 10.29244/51-57.
- Miliute, I., Buzaitė, O., Baniulis, D., and Stanys, V. 2015. Bacterial endophytes in agricultural crops and their role in stress tolerance: a review. *Zemdirbyste.* 102(4). Pp: 465–478. doi: 10.13080/z-a.2015.102.060.
- Nugraheni, I. A. 2019. Deteksi *Escherichia coli* Dan *Salmonella* Pada Jamu Kunir Asem Di Daerah Gamping, Sleman, Yogyakarta. *Journal Health of Studies.* 3(2). Pp: 40–50.
- Oktavia, N. and Pujiyanto, S. 2018. Isolasi dan Uji Antagonisme Bakteri Endofit Tapak Dara (*Catharanthus roseus*, L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Berkala Bioteknologi.* 1(1). Pp: 6–12.
- Simarmata, R., Lekatompessy, S. and Sukiman, H. 2007. Isolasi mikroba endofitik dari tanaman obat sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dan analisis potensinya sebagai antimikroba. *Berk. Penel. Hayati.* 13(1). Pp: 85–90.

# ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA BAKTERI ASAM LAKTAT DARI BLONDO VIRGIN COCONUT OIL TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*

## ISOLATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY TEST OF LACTIC ACID BACTERIA FROM BLONDO VIRGIN COCONUT OIL AGAINST *Staphylococcus aureus*

Burhannuddin Rasyid, Ketut Meina Sandi, I Gede Sudarmanto, I Wayan Karta

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar  
Korespondensi: Burhannuddin Rasyid. Email : boerhannuddin@gmail.com

### ABSTRAK

Blondo merupakan limbah produksi virgin coconut oil (VCO) dapat menjadi sumber untuk mengisolasi bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat mampu menghasilkan zat antimikroba yang dapat dikembangkan untuk mengobati kasus infeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi mulai dari keracunan makanan, infeksi kulit hingga infeksi sistemik. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menguji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari blondo terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif cross-sectional. Sampel blondo diambil dari kelompok wanita tani di Tabanan yang berjumlah 16 sampel dengan pengambilan sampel secara simple random sampling. Bakteri diisolasi menggunakan media selektif yaitu agar de Man Rogosa and Sharpe (MRS) dan identifikasi dengan uji pewarnaan gram, uji katalase dan uji produksi gas dari glukosa. Uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa di dalam sampel blondo terdapat bakteri asam laktat dari genus *Lactobacillus* dan *Streptococcus*. Bakteri asam laktat yang diisolasi dari blondo VCO mampu menghambat *Staphylococcus aureus* dengan terbentuknya zona hambat berupa zona bening dengan rata-rata diameter zona hambat 11,02 mm. Zona hambat yang terbentuk termasuk dalam kategori sedang dan kuat, dengan zona hambat tertinggi yang dihasilkan yaitu 20,8 mm dan terendah yaitu 9,2 mm. Bakteri asam laktat dari blondo memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

**Kata Kunci:** Bakteri Asam Laktat, Blondo, Potensi Antimikroba

### ABSTRACT

Blondo is a waste from the virgin coconut oil (VCO) produced which can be used as a source of lactic acid bacteria. Lactic acid bacteria are capable of producing antimicrobial compounds to inhibit the growth of pathogenic bacteria. The purpose of this study was to isolate and test the antimicrobial activity of lactic acid bacteria from blondo against *Staphylococcus aureus* bacteria. This research is a descriptive cross-sectional. Blondo samples were taken at group of farm women in Tabanan Regency, which was 16 samples with simple random sampling. Bacteria were isolated using selective medium de Man Rogosa and Sharpe (MRS) agar and identified with gram staining test, catalase test and gas production test from glucose. The antimicrobial activity test of lactic acid bacteria was performed by using wells-diffusion method. The results of this study indicated there was lactic acid bacteria from the genus *Lactobacillus* and *Streptococcus* in the blondo sample. Lactic acid bacteria isolated from blondo were able to inhibit *Staphylococcus aureus* by forming a clear zone with an average diameter of inhibition zone was 11.02 mm. There were two antimicrobial potential category, medium and strong category, with the highest resulting inhibit zone was 20.8 mm and the lowest was 9.2 mm. Lactic acid bacteria from blondo had antimicrobials potential against *Staphylococcus aureus*

**Keywords:** Lactic Acid Bacteria, Blondo, Antimicrobial Potential

**How To Cite:** Rasyid, B., Sandi, K., Sudarmanto, I., & Karta, I. (2021). ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA BAKTERI ASAM LAKTAT DARI BLONDO VIRGIN COCONUT OIL TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*. *Biomedika*, 13(1), 56-67. doi:<https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.11070>

**DOI:** <https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.11070>

## PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan suatu problema yang rumit dan kompleks di bidang kesehatan. Infeksi disebut juga dengan *communicable disease* atau *transmissible disease* terjadi apabila mikroorganisme patogen masuk dan mengalahkan sistem pertahanan tubuh (James *et al.*, 2008). Mikroorganisme patogen tersebut salah satunya yaitu *Staphylococcus aureus* yang dapat menyebabkan keracunan makanan akibat enterotoksin yang dihasilkan. Enterotoksin ini dapat stabil pada suhu tinggi dan cepat resisten terhadap zat antimikroba sehingga menimbulkan permasalahan dalam tata laksana pengobatan (Brooks *et al.*, 2010).

Penggunaan antibiotik masih paling dominan digunakan sebagai pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri (Sumarjo, 2009). Tidak terkendalinya penggunaan antibiotik untuk pengobatan infeksi menimbulkan kasus baru di bidang kesehatan. Kemudahan dalam membeli obat antibiotik di apotek tanpa disertai resep dokter dan kurangnya informasi mengenai pemilihan serta penggunaan antibiotik yang tepat, telah berkontribusi terhadap terjadinya resistensi.

Saat ini bahan alam mulai kembali digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan. Eksplorasi pengobatan lainnya yang dilakukan mulai dari bahan alam bahkan sampai ke produk sampingan atau limbah yang tidak dimanfaatkan penggunaannya.

Blondo merupakan limbah dari proses pembuatan *Virgin Coconut Oil* (VCO) yang tidak mengalami pengolahan lebih lanjut. Kebanyakan limbah blondo dibuang begitu saja atau beberapa orang hanya memanfaatkannya kembali menjadi minyak goreng. Limbah blondo ini memiliki kandungan nutrisi yang cukup tinggi diantaranya mengandung karbohidrat dan protein yang cukup tinggi, lemak, mineral, serta asam lemak essensial seperti asam oleat, linoleat, linolenat serta bakteri yang menguntungkan yaitu bakteri asam laktat (Haerani, 2010; Murtius *et al.*, 2012). Pertumbuhan bakteri asam laktat pada blondo didukung oleh faktor-faktor tertentu seperti nutrisi pada santan utamanya yaitu karbohidrat serta kondisi lingkungan yang sesuai (Florou-Paneri *et al.*, 2013).

Bakteri asam laktat merupakan bakteri Gram positif yang memiliki karakteristik berbentuk batang atau kokus, tidak membentuk spora, menghasilkan asam laktat serta

menghasilkan substansi antimikroba diantaranya asam organik, bakteriosin, hidrogen peroksida, karbondioksida, dan alkohol (Lahtinen *et al.*, 2012). Bakteri asam laktat umumnya dimanfaatkan di bidang pangan yakni pada makan berfermentasi yang digunakan sebagai pengganti bahan pengawet kimia (biopreservatif) pada bahan makanan guna memperpanjang umur simpan produk (Kapoor, 2011). Bakteri asam laktat juga dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan, salah satu contohnya yaitu sebagai minuman probiotik. Bakteri asam laktat jenis *Lactobacillus casei* telah dimanfaatkan sebagai starter bakteri dalam pembuatan minuman probiotik dari air kelapa muda. Fungsi starter bakteri pada minuman probiotik adalah untuk menjaga kesehatan tubuh, menstimulasi respons kekebalan, dan mengurangi bakteri patogen dalam usus (Yanuar dan Sutrisno, 2015).

Potensi bakteri asam laktat sebagai antimikroba telah banyak diuji oleh beberapa peneliti. Isolat bakteri asam laktat asal dua hari fermentasi kakao varietas forester memiliki sifat antibakteri terhadap lima bakteri patogen (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*) dengan menghasilkan

diameter daya hambat berkisar 7-12 mm (Urnemi *et al.*, 2011). Bakteri asam laktat hasil isolasi dari berbagai sumber nabati dan bahan berbasis susu memiliki aktivitas antagonistik terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* (Susanti *et al.*, 2007).

Berbagai penelitian yang telah dilakukan untuk menemukan sumber dari bakteri asam laktat, diharapkan dapat dikembangkan lebih lanjut dalam proses penemuan bahan antimikroba baru. Berdasarkan hal tersebut, maka dalam penelitian ini diuji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat yang diisolasi dari sampel blondo terhadap salah satu bakteri patogen yakni *Staphylococcus aureus*

## METODE

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan pendekatan *cross sectional*. Bakteri asam laktat yang diuji diisolasi dari 16 sampel blondo yang dihasilkan oleh kelompok wanita tani, Desa Tengkudak, Kecamatan Penebel, Kabupaten Tabanan, Bali. Sampel diambil dengan teknik *probability sampling* secara *simple random sampling* melalui teknik acak sederhana.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu neraca analitik (Radwag),

hotplate stirrer (Jisico), autoklaf (TOMY SX-500), pipet ukur steril (Iwaki-Pyrex®), oven (Wegnac), Biosafety Cabinet (Biobase), McFarland densitometer (Biosan), standar McFarland (Prolab), mikropipet (Socorex) inkubator (Esco), mikroskop binokuler (Olympus).

Bahan-bahan yang digunakan antar lain: media Muller Hinton Agar (MHA) (Oxoid), isolat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *De Man Rogosa and Sharpe* (MRS) Agar (Oxoid), *De Man Rogosa and Sharpe* (MRS) Broth (Oxoid), pewarna Gram, minyak emersi, larutan hidrogen peroksida, alkohol 70%, NaCl fisiologis steril, paper disk kosong, paper disk antibiotik amoksisilin (sebagai kontrol kerja yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*), dan aquades steril.

Jenis data yang dikumpulkan adalah data primer meliputi data mengenai hasil isolasi bakteri asam laktat dari sampel blondo dan hasil uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat terhadap *Staphylococcus aureus*. Data dikumpulkan melalui pemeriksaan laboratorium, yaitu dengan teknik kultur dan pengukuran aktivitas antimikroba dengan metode difusi

sumuran. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

Sampel blondo diambil pada bagian atas serta bagian antara minyak dan air menggunakan spatula dan dimasukkan secara aseptis ke dalam botol sampel steril. Sampel blondo diencerkan menggunakan garam fisiologis (NaCl 0,85% steril) dengan rasio 1:9. Sampel selanjutnya diinokulasikan pada media MRS agar dengan metode *streak plate*, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Koloni bakteri yang tumbuh selanjutnya diidentifikasi dengan pewarnaan gram, uji katalase, dan uji produksi gas dari glukosa.

Uji aktivitas antimikroba dilakukan pada media MHA. Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* usia 24 jam diambil beberapa ose kemudian disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan NaCl fisiologis steril sebanyak 5 mL. Kekeruhan suspensi dibandingkan dengan standar *kekeruhan McFarland* 0,5% yang setara dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL pada alat *McFarland densitometer*. Swab kapas steril disiapkan dan dicelupkan ke dalam suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*, kemudian digoreskan merata pada permukaan media MHA, didiamkan selama 5-15 menit agar suspensi dapat meresap ke dalam media.

Sumuran dibuat pada media MHA dengan menggunakan alat pembuat sumur dengan diameter sumuran sama dengan diameter cakram. Masing-masing sumuran kemudian ditambahkan dengan 20 µl suspensi bakteri asam laktat usia 24 jam yang dikultur pada media MRS Broth. Media MHA tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur untuk menentukan aktivitas antimikroba bakteri asam laktat terhadap *Staphylococcus aureus*. Sebagai kontrol negatif digunakan media MRS broth steril yang dimasukkan ke dalam sumuran. Sedangkan kontrol positif digunakan cakram antibiotik amoksisilin yang ditempelkan pada media MHA.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Kultur bakteri asam laktat dari sampel blondo dilakukan pada media MRS agar yang merupakan media selektif untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Hasil kultur bakteri asam laktat dapat dilihat pada gambar 1 di bawah ini :



**Gambar 1.** Koloni bakteri yang tumbuh pada media MRS Agar (Sumber: Data Primer, 2018)

Berdasarkan gambar 1 koloni bakteri yang tumbuh pada media MRS agar memiliki karakteristik berbentuk bulat, elevasi cembung, berwarna putih dan cream, serta tepian yang rata. Bakteri asam laktat dapat diisolasi dari berbagai sampel yakni susu fermentasi, sawi fermentasi dan saluran pencernaan ikan nila, dengan karakteristik koloni pada media pertumbuhan yaitu berwarna putih, cream, cream kekuningan sampai kuning, bentuk bulat dengan tepian rata serta elevasi cembung dan rata (Susanti *et al.*, 2007). Isolasi bakteri asam laktat dari yoghurt juga menunjukkan karakteristik yang serupa yaitu berbentuk bulat, berwarna cream, kuning muda dan putih kekuningan, tepian rata, serta elevasi cembung dan datar (Riadi *et al.*, 2017).

Koloni bakteri yang tumbuh pada media MRS agar kemudian diidentifikasi dengan pewarnaan gram, uji katalase, dan uji produksi gas dari glukosa. Hasil identifikasi koloni dapat dilihat pada tabel 1, gambar 2 dan 3.

**Tabel 1. Hasil Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dari Sampel Blondo**

Uji	Jumlah (sampel)	Prosentase (%)
Pewarnaan Gram:		
- Gram positif	16	100
- Gram negatif	0	0
Bentuk sel:		
- Basil	15	93,75
- Kokus	1	6,25

Katalase:		
- Negatif	16	100
- Positif	0	0
Produksi gas dari glukosa:		
- Terdapat gas	2	12,5
- Tidak terdapat gas	14	87,5

(Sumber : Data Primer, 2018)



**Gambar 2.** Hasil pewarnaan Gram BAL isolat Blondo



**Gambar 3.** Hasil uji katalase BAL isolat Blondo

Berdasarkan tabel 1 di atas, dari hasil pewarnaan Gram terhadap koloni bakteri yang tumbuh ditemukan bakteri yang bersifat gram positif (gambar 2) dengan hasil negatif pada uji katalase (gambar 3). Beberapa penelitian lain juga telah melaporkan hasil identifikasi bakteri asam laktat dengan karakteristik Gram positif dan katalase negative (Delvia *et al.*, 2015; Ismail dan Yulvizar, 2017; Riadi *et al.*, 2017).

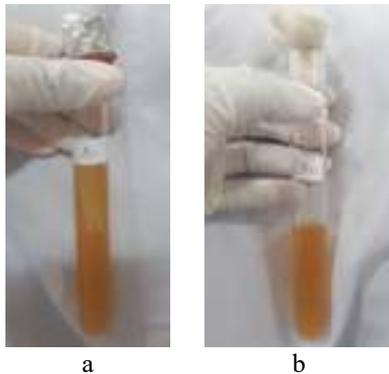
Bentuk sel dari bakteri asam laktat dapat membantu dalam mengetahui genus dari bakteri asam laktat. Bentuk sel bakteri asam

laktat yang ditemukan pada sampel blondo yaitu berbentuk basil (93,75%) dan kokus (6,25%) (tabel 1). Bentuk sel bakteri asam laktat dikelompokkan menjadi dua famili yaitu Streptococcaceae dan Lactobacillaceae. Famili Lactobacillaceae yang memiliki bentuk basil dan terdiri dari genus *Lactobacillus*. Famili Streptococcaceae yang memiliki bentuk bulat dan terdiri dari genus *Streptococcus*, *Leuconostoc* dan *Pediococcus* (Muzaifa, 2014)

Berdasarkan karakteristik bentuk selnya, bakteri asam laktat dengan bentuk basil diduga merupakan genus *Lactobacillus*. Sedangkan bakteri asam laktat dengan bentuk kokus, diduga dari genus *Streptococcus* dan *Leuconostoc*. Hal tersebut dikarenakan bakteri asam laktat yang ditemukan tersusun seperti rantai (Holzapfel *and* Wood, 2014). Namun untuk memastikan genusnya, maka dilakukan uji produksi gas dari glukosa.

Berdasarkan uji produksi gas dari glukosa yang ditunjukkan pada tabel 1, sejumlah 14 sampel (87,5%) yang diuji memiliki tipe fermentasi homofermentatif yang ditandai dengan tidak adanya gas pada tabung Durham (gambar 4a). Sedangkan dua sampel (12,5%) lainnya merupakan tipe heterofermentatif yang

ditandai dengan terbentuknya gelembung gas pada tabung durham (gambar 4b).



**Gambar 4.** Hasil uji produksi gas positif (a) dan produksi gas negatif (b)

Bakteri asam laktat dengan tipe fermentasi homofermentatif yaitu *Streptococcus*, *Pediococcus* dan *Lactobacillus*. Sedangkan bakteri asam laktat dengan tipe fermentasi heterofermentatif seperti *Leuconostoc* dan beberapa spesies dari *Lactobacillus* (Aritonang *et al.*, 2017).

Berdasarkan serangkaian uji untuk identifikasi bakteri asam laktat, dapat diketahui jenis bakteri asam laktat yang berhasil diisolasi dari sampel blondo merupakan genus *Lactobacillus* dan genus *Streptococcus*. Penelitian lain yang mengisolasi bakteri asam laktat dari sampel blondo juga menemukan bakteri dari genus *Lactobacillus sp.* dan *Streptococcus sp.* (Murtius *et al.*, 2012). Jenis bakteri asam laktat lainnya yang dapat diisolasi dari sampel blondo antara lain *L. delbruecki subsp. bulgaricus*, *L. casei* dan *L. fermenti*, yang

seluruhnya berasal dari genus *Lactobacillus* (Mandei, 2016).

Berdasarkan hasil identifikasi dari 16 sampel blondo ditemukan 32 isolat yang merupakan bakteri asam laktat. Semua isolat bakteri asam laktat selanjutnya diuji aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi sumuran. Hasil uji aktivitas antimikroba dapat dilihat pada tabel 2 dan gambar 4.

**Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Isolat Blondo Terhadap *Staphylococcus Aureus***

No	Jumlah isolate	Aktivitas antimikroba	Rata-rata zona hambat
1	26	Mampu menghambat	11,02 (mm) ( $\pm 5,7$ )
2	6	Tidak mampu menghambat	0 mm

(Sumber : Data Primer, 2018)



**Gambar 4.** Hasil uji aktivitas antimikroba BAL isolat blondo terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Adapun kategori aktivitas antimikroba yang dihasilkan oleh 26 isolat bakteri asam laktat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ditunjukkan pada tabel 3 di bawah ini :

**Tabel 3. Kategori Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Isolat Blondo Terhadap *Staphylococcus Aureus***

No	Kategori Daya Hambat	Jumlah (isolat)	Prosentase (%)
1	Sedang	3	11,54
2	Kuat	23	88,46
Total		26	100

(Sumber : Data Primer, 2018)

Berdasarkan Tabel 2 di atas, sebanyak 26 isolat (81,25%) bakteri asam laktat mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Aktivitas antimikroba bakteri asam laktat tersebut ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran pada media MHA yang berisi suspensi bakteri asam laktat. Zona bening tersebut menandakan adanya aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Zona bening yang dibentuk oleh setiap isolat bakteri asam laktat menunjukkan hasil yang berbeda-beda dengan rata-rata diameter yaitu 11,02 mm. Hasil zona bening tertinggi ditunjukkan oleh isolat bakteri G11 sebesar 20,8 mm (gambar 4). Sedangkan zona bening yang terendah yang dihasilkan yaitu sebesar 9,2 mm yang ditunjukkan oleh isolat A21. Perbedaan zona bening yang terbentuk dapat disebabkan oleh kemampuan bakteri asam laktat dalam menghasilkan zat antimikroba, jenis dan jumlah zat antimikroba yang dihasilkan serta umur biakan bakteri (Riadi *et al.*, 2017)

Kategori antimikroba berdasarkan diameter zona bening yang terbentuk digolongkan ke dalam kategori kuat (88,46%) dan sedang (11,54%) (Tabel 3). Kategori antimikroba berdasarkan diameter zona bening yang dihasilkan yaitu sangat kuat dengan diameter >20 mm, kuat diameter antara 11-20 mm, sedang dengan diameter antara 6-10 mm dan lemah  $\leq 5$  mm (Surjowardojo *et al.*, 2015). Bakteri asam laktat yang diisolasi masing-masing dari fermentasi biji kakao (Ismail & Yulvizar, 2017) dan bekasam (Desniar *et al.*, 2012) juga mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kategori kuat.

Berdasarkan tipe fermentasinya, bakteri asam laktat dapat menghasilkan zat antimikroba yang berbeda-beda. Tipe homofermentatif memproduksi zat antimikroba berupa asam laktat sebagai produk utama dari metabolisme glukosa. Sedangkan bakteri asam laktat heterofermentatif selain menghasilkan asam laktat juga menghasilkan asam asetat, bakteriosin karbondioksida, hidrogen peroksida dan alkohol (Lahtinen *et al.*, 2012).

Dengan beragamnya senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat heterofermentatif maka diameter zona hambat yang dibentuk akan lebih besar dari tipe

homofermentatif. Namun dalam penelitian ini isolat dengan kode B11, B12, B31 dan B32 yang merupakan tipe heterofermentatif, zona hambat yang terbentuk terhadap *Staphylococcus aureus* tidaklah lebih besar dari tipe homofermentatif. Hal ini disebabkan karena konsentrasi dari beberapa zat antimikroba yang dihasilkan jumlahnya sedikit dan juga karena sifat karakteristik dari bakteri *Staphylococcus aureus*.

Hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat heterofermentatif mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menghancurkan enzim, mengubah sifat protein, dan mengganggu membran dari mikroorganisme (Maczulak, 2011). Namun karena karakteristik dari bakteri *Staphylococcus aureus* yang memiliki enzim katalase, membuat hidrogen peroksida ini tidak dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* (Brooks *et al.*, 2010).

Mekanisme karbondioksida dalam menghambat bakteri belum diketahui secara pasti. Karbondioksida diduga mampu menyebabkan kondisi lingkungan menjadi anaerob atau kadar oksigen menjadi sedikit (Siregar, 2010). Kondisi yang anaerob ini dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri. Namun bakteri *Staphylococcus aureus* diketahui bersifat

anaerob fakultatif yang mampu hidup baik ada maupun tidak ada oksigen, sehingga karbondioksida tidak dapat bekerja secara maksimal dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* (Brooks *et al.*, 2010).

Kemampuan bakteri asam laktat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sebagian besar karena adanya asam organik yakni asam laktat dan asam asetat. Asam laktat merupakan produk utama dari proses metabolisme glukosa oleh bakteri asam laktat. Selama 24 jam inkubasi, konsentrasi asam laktat yang diproduksi yaitu berkisar 16,692-20,620 g/L dan akan meningkat seiring dengan lamanya waktu inkubasi (Desniar *et al.*, 2012). Jumlah produksi asam organik yang tinggi, membuat asam organik ini mampu menembus membran bakteri yang menyebabkan anion asam lemah dan zat antimikroba lainnya menumpuk di sitoplasma, sehingga mengganggu proses metabolisme dari *Staphylococcus aureus* (Lahtinen *et al.*, 2012). Produksi asam laktat yang terlalu tinggi juga menyebabkan penurunan pH pada media. Asam laktat dan penurunan pH secara sinergis bekerja sama dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Penurunan pH menjadi 3–4,5 secara tidak langsung membantu mengganggu aktivitas enzim sehingga sel

*Staphylococcus aureus* tidak mampu melakukan aktivitas metabolismenya (Sutrisna *et al.*, 2017).

Keberhasilan zat antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat juga tergantung pada struktur dinding sel bakteri yang dihambat. Struktur dinding sel akan berpengaruh pada ketahanan suatu bakteri terhadap zat antimikroba. Dalam penelitian ini bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan merupakan bakteri Gram positif dengan struktur dinding sel yang lebih sederhana dibandingkan bakteri Gram negatif sehingga lebih rentan terhadap aktivitas antimikroba (Brooks *et al.*, 2010)

Aktivitas antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat yang diisolasi dari sampel blonde dapat menjadi informasi baru mengenai limbah yang tidak selamanya memberikan efek yang buruk. Kemampuan bakteri asam laktat yang diisolasi dari blonde dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, dapat dimanfaatkan sebagai starter bakteri dalam pembuatan minuman probiotik, namun perlu dilakukan tahap uji lebih lanjut yaitu hitung koloni bakteri asam laktat, uji ketahanan pH dan garam empedu.

Penghitungan koloni bakteri asam laktat erat kaitannya dengan jumlah zat antimikroba yang akan dihasilkan. Semakin banyak jumlah koloni bakteri asam laktat maka semakin banyak zat antimikroba yang dihasilkan. Hasil penelitian lain melaporkan jumlah koloni bakteri asam laktat yang diisolasi dari blonde VCO berjumlah  $5 \times 10^9$  CFU/ml. Jumlah tersebut cukup digunakan sebagai starter bakteri dalam pembuatan minuman probiotik (Murtius *et al.*, 2012).

## SIMPULAN DAN SARAN

Bakteri asam laktat yang diisolasi dari sampel blonde mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (81,25%). Rata-rata diameter zona hambat yaitu 11,02 mm, diameter tertinggi yaitu 20,08 mm dan terendah yaitu 9,2 mm. Aktivitas antimikroba bakteri asam laktat terhadap *Staphylococcus aureus* termasuk ke dalam kategori sedang sebanyak 11,54% dan kuat sebanyak 88,46%.

Bakteri asam laktat yang diisolasi dari blonde diharapkan dapat digunakan lebih lanjut sebagai salah satu starter bakteri dalam pembuatan minuman probiotik setelah dilakukan uji tahap lanjut yaitu hitung koloni bakteri asam laktat, uji ketahanan pH dan garam empedu.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aritonang, S. N., Roza, E., Rossi E., Purwati, E., and Husmaini, H. 2017. Isolation and identification of lactic acid bacteria from okara and evaluation of their potential as candidate probiotics. *Pakistan Journal of Nutrition*. 16(8). Pp: 618–628. doi: 10.3923/pjn.2017.618.628.
- Brooks, G. F., Carol, K. C., Butel, J.S., Morse, S.A., Mietzner, T.A. Jawetz, M.A. 2010. *Medical Microbiology*. 25th Ed. New York: Mc Graw Hil.
- Delvia, F., Fridayanti, A. dan Ibrahim, A. 2015. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (Bal) Dari Buah Mangga (*Mangifera indica* L.). 1(2). Pp: 114–20. doi: 10.25026/mpc.v1i1.16.
- Desniar, Rusmana, I., Suwanto, A., dan Mubarik, N.R. 2012. Senyawa Antimikroba Yang Dihasilkan Oleh Bakteri Asam Laktat Asal Bekasam. *Jurnal Akuatika Indonesia*. 3(2). Pp: 135-45.
- Florou-Paneri, P., Christaki, E. and Bonos, E. 2013. Lactic Acid Bacteria - R & D for Food, Health and Livestock Purpose in Kongo, M. (ed.). *Lactic Acid Bacteria as Source of Functional Ingredients*. InTech. Pp: 589–614. doi: 10.5772/47766.
- Haerani. 2010. Pemanfaatan Limbah Virgin Coconut Oil (Blondo). *Jurnal MKMI*, 6(4). Pp: 244–48.
- Holzapfel, W. H. and Wood, B. J. B. (2014) *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy*. New York: John Wiley and Sons. doi: 10.1002/9781118655252.ch19.
- Ismail, Y. S. and Yulvizar, C. 2017. Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Bioleuser*. 1(2). Pp: 45–53.
- James, J., Baker, C. and Swain, H. 2008. *Prinsip-Prinsip Sains untuk Keperawatan*. Edited by A. Safitri and R. Astikawati. Jakarta: Erlangga.
- Kapoor, K. 2011. *Illustrated Dictionary of Microbiology*. New Delhi: Oxford Book Company. doi: 10.1038/nchembio.618.
- Lahtinen, S., Ouwehand, A.C., Salminen, S., and von-Wright, A. 2012. *Lactic Acid Bacteria Microbiological and functional aspects*. 4th edn. New York: CRC Press.
- Maczulak, A. 2011. *Encyclopedia of Microbiology*. United States of America: Facts On File, Inc.
- Mandei, J. H. 2016. Pemanfaatan Blondo sebagai Starter dalam Pembuatan Yogurt. *Buletin Palma*. 16(1). p. 66. doi: 10.21082/bp.v16n1.2015.66-76.
- Murtius, W. S., Kasim, A. and Sayuti, K. 2012. Pemanfaatan Blondo Sebagai Starter Dalam Pembuatan Minuman Probiotik. Universitas Andalas. 15(2). Pp: 129–39
- Muzaifa, M. 2014. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Indigenous dari Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.). *Jurnal Sagu*, 13(1). Pp: 8–13. Available at: <http://ejournal.unri.ac.id/index.php/JSG/article/view/2130>.
- Riadi, S., Situmeang, S. M. . and Musthari, M. 2017. Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Yoghurt Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal Biosains*, 3(3). p. 144. doi: 10.24114/jbio.v3i3.8302.
- Siregar, J. A. 2010. *Pengaruh Co2 (Karbondioksida) Murni Terhadap Pertumbuhan Mikroorganisme Pada Produk Minuman Sprite di PT. CocaCola Bottling Indonesia Unit Medan*. Medan.
- Sumarjo, D. 2009. *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta*. Edited by A. Hanif and J Manurung. Jakarta: EGC.
- Surjowardojo, P., Susilorini, T. and Panjaitan, A. 2015. Daya Hambat Jus Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia*

- coli Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah', *TERNAK TROPIKA Journal of Tropical Animal Production*. 16(2). Pp: 30–9. doi: 10.21776/ub.jtapro.2015.016.02.5.
- Susanti, I., Kusumaningtyas, R. W. and Illaningtyas, F. 2007. Probiotic Characteristics of lactic acid Bacteria as Candidate for Functional Food. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 18(2). Pp: 89–95.
- Sutrisna, R., Ekowati, C. N. and Sinaga, E. 2017. Pengaruh pH terhadap Produksi Antibakteri oleh Bakteri Asam Laktat dari Usus Itik Effect of pH on Production Antibacterial by Lactic Acid Bacteria From Gut Duck. 15(3). Pp: 234–8.
- Urnemi, Syukur,S., Purwati, E., Ibrahim, S., dan Jamsari .2011. Potensi Bakteri Asam Laktat dalam Menghasilkan Bakteriosin sebagai Antimikroba dan Pengukuran Beratmolekulnya Dengan SDS-PAGE dari Isolat Fermentasi Kakao. *Jurnal Riset Kimia*. 4(2). Pp: 94–100.
- Yanuar, S. E. and Sutrisno, A. 2015. Minuman Probiotik dari Air Kelapa Muda dengan Starter Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus casei*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(3). Pp: 909-17.

## UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum* L.) TERHADAP MORTALITAS LARVA *Anopheles aconitus*

### EFFECTIVENESS OF TOBACCO LEAF ETHANOL EXTRACT (*Nicotiana tabacum* L.) AGAINST *Anopheles aconitus* LARVA MORTALITY

Nurhayani, Dhiastika Nanda Sari, Rochmadina Suci Bestari, Erika Diana Risanti

Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Surakarta

Korespondensi: dr. Nurhayani, M.Sc. Alamat email: nur128@ums.ac.id

#### ABSTRAK

*Anopheles aconitus* merupakan nyamuk pembawa parasit malaria (*Plasmodium* sp.). Pengendalian penyakit malaria bergantung pada pengendalian vektornya. Penggunaan larvasida alami perlu dikembangkan untuk mengurangi dampak negatif larvasida sintetis yang dapat mencemari lingkungan. Tanaman yang dapat digunakan untuk larvasida alami salah satunya adalah daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) karena mengandung flavanoid, alkaloid, tanin, saponin, dan minyak atsiri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun tembakau terhadap mortalitas larva *Anopheles aconitus* dan dosis optimal ekstrak daun tembakau sebagai larvasida *Anopheles aconitus*. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan rancangan post test only with control group design, dengan 4 variasi konsentrasi 0,00875%, 0,0175%, 0,035%, 0,07%, 1 kontrol negatif (aquadest dan CMC) dan 1 kontrol positif (abate), dilakukan 4 kali pengulangan dengan pengamatan tiap 6 jam sekali selama 24 jam. Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan terdapat hubungan antara ekstrak daun tembakau kematian larva *Anopheles aconitus* ( $p=0,000$ ). Hasil uji Post Hoc Mann-Whitney, semua konsentrasi memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan kontrol negatif, sedangkan kontrol positif dengan konsentrasi 0,07% tidak berbeda signifikan, menunjukkan bahwa konsentrasi 0,07% memiliki potensi hampir dengan abate sebagai larvasida. Analisis probit LC50 pada 0,025% dan LT50 pada 9,877 jam. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun tembakau efektif dalam membunuh larva *Anopheles aconitus*.

**Kata Kunci :** Ekstrak Daun Tembakau, *Anopheles aconitus*, Larvasida, Malaria

#### ABSTRACT

*Anopheles aconitus* is a mosquito carrying malaria parasite (*Plasmodium* sp.). Malaria control depends on controlling the vector. The use of natural larvicides needs to be developed to reduce the negative impact of synthetic larvicides which can pollute the environment. One of the plants that can be used for natural larvicides is tobacco leaf (*Nicotiana tabacum* L.) because it contains flavonoids, alkaloids, tannins, saponins, and essential oils. The purpose of this study was to determine the effectiveness of tobacco leaf extract on the mortality of *Anopheles aconitus* larvae and the optimal dose of tobacco leaf extract as *Anopheles aconitus* larvae. This study is a laboratory experimental study with post test only with control group design, with 4 concentrations of 0.00875%, 0.0175%, 0.035%, 0.07%, 1 negative control (aquadest and CMC) and 1 positive control (abate) performed 4 repetitions with observations every 6 hours for 24 hours. The Kruskal-Wallis test showed that there was a relationship between tobacco leaf extract and the death of *Anopheles aconitus* larvae ( $p=0,000$ ). Post-Hoc Mann-Whitney test results, all concentrations had significant differences compared to negative controls, while positive controls with a concentration of 0.07% did not differ significantly, indicating that a concentration of 0.07% had the potential to be nearly as abate as larvicide. The LC50 probit analysis was 0.025% and LT50 was 9.877 hours. So it can be concluded that tobacco leaf extract is effective in killing *Anopheles aconitus* larvae.

**Keyword:** Tobacco Leaf Extract, *Anopheles aconitus*, Larvasida, Malaria

**How To Cite:** Nurhayani, N., Sari, S., Bestari, R., & Risanti, E. (2021). UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum* L.) TERHADAP MORTALITAS LARVA *Anopheles aconitus*. *Biomedika*, 13(1), 68-75. doi:<https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.11272>

**DOI:** <https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.11272>

## PENDAHULUAN

Malaria merupakan salah satu penyakit infeksi yang paling berbahaya di dunia. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan setiap tahun terdapat 300-500 juta penduduk dunia menderita penyakit ini dan sekitar 2,7 juta jiwa meninggal akibat malaria (WHO, 2015).

Malaria merupakan suatu penyakit infeksi akut maupun kronik yang disebabkan oleh infeksi *Plasmodium* yang menyerang eritrosit dan ditandai dengan ditemukannya bentuk aseksual dalam darah, dengan gejala demam, menggigil, anemia, dan pembesaran limpa (Fitriany dan Ahmad, 2018).

Salah satu upaya yang dilakukan memutus penyebaran penyakit malaria, adalah dengan pemberian larvasida. Larvasida kimia yang banyak digunakan adalah abate. Penggunaan abate memiliki dampak buruk yang dapat menimbulkan keracunan pada manusia, keracunan pada hewan ternak, polusi lingkungan, dan serangga lain menjadi resisten (Pramudyo *et al.*, 2015). Oleh karena itu diperlukan cara-cara lain untuk memberantas vektor yang aman bagi lingkungan dan tidak mengganggu ekosistem (Astriani dan Widawati, 2017).

Alternatif digunakan saat ini adalah dengan menggunakan larvasida alami, yaitu larvasida berbahan dasar tumbuhan. Larvasida memiliki kemampuan membunuh yang lebih baik daripada insektisida sintetis karena sasaran dari larvasida adalah larva nyamuk yang masih memiliki kemampuan bertahan hidup rendah dan terlokalisir di suatu tempat (tidak dapat berpindah jauh) (Yasmin dkk., 2012).

Tumbuhan yang dapat digunakan sebagai larvasida alami adalah daun tembakau. Dalam daun tembakau diduga terdapat kandungan flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan minyak atsiri yang bersifat toksik bagi larva *Anopheles aconitus*.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Handayani dkk. (2018) bahwa ekstrak daun tembakau efektif dalam membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti*. Pada penelitian yang dilakukan Wijayanti dkk. (2015), ekstrak daun tembakau mempunyai efek larvasida dalam membunuh larva nyamuk *Culex quinquefasciatus*.

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti menduga daun tembakau mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan minyak atsiri yang bersifat toksik bagi larva *Anopheles aconitus* sehingga dapat digunakan sebagai

larvasida alami yang efektif untuk nyamuk *Anopheles aconitus*. Peneliti berinisiatif melakukan penelitian untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun tembakau efektif terhadap mortalitas larva *Anopheles aconitus*. Sampai proposal penelitian ini ditulis, belum ada penelitian yang mencari tahu efektivitas ekstrak etanol 96% tembakau terhadap mortalitas larva *Anopheles aconitus*. Tujuan penelitian ini Untuk mengetahui efek ekstrak etanol 96% tembakau terhadap larva *Anopheles aconitus* dan untuk mengetahui dosis optimal ekstrak etanol 96% tembakau sebagai larvasida *Anopheles aconitus*.

Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk pemanfaatan daun tembakau sebagai larvasida alami *Anopheles aconitus* untuk mengurangi kejadian malaria di Indonesia. Hipotesis yang diharapkan adalah ekstrak etanol daun tembakau memiliki efek mortalitas terhadap larva *Anopheles aconitus*.

## METODE PENELITIAN

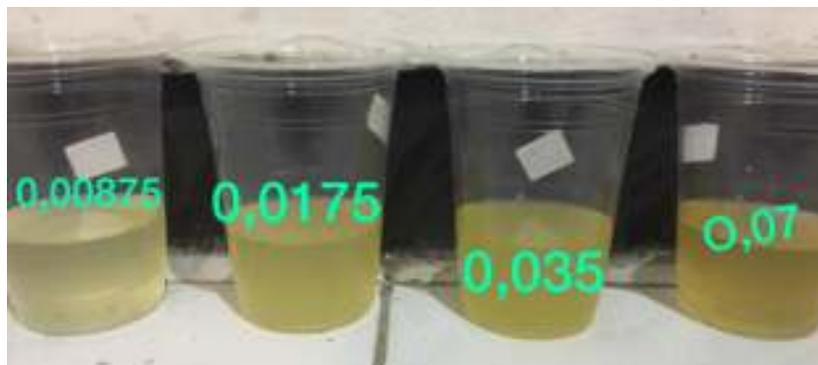
Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik menggunakan metode *post test only with controlled group design*. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Surakarta dan penelitian

dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP) Salatiga, Jawa Tengah. Besar sampel pada penelitian ini menggunakan 2 kontrol dan 4 perlakuan dengan 25 larva instar III dalam setiap kelompok perlakuan yang dimasukkan dalam gelas uji. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini ada 600 ekor. Sampel diambil dengan teknik *purposive sampling*, yaitu metode penelitian subjek berdasarkan atas ciri-ciri atau sifat tertentu yang berkaitan dengan karakteristik populasi. Kriteria inklusi yaitu larva instar III dan larva yang bergerak aktif. Sedangkan kriteria eksklusi larva mati sebelum penelitian.

Pembuatan ekstrak etanol 96% daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) melewati tahap pencucian dan pengeringan. Setelah kering kemudian sampai menjadi simplisia kemudian ditimbang. Simplisia yang sudah siap kemudian direndam dengan pelarut etanol 96% selama 4x24 jam. Setelah 4x24 jam hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring. Ekstrak yang telah disaring kemudian diuapkan dengan alat evaporator untuk mendapatkan ekstrak kemudian dituang ke cawan porselin dan didapatkan ekstrak. Ekstrak dipanaskan pada *waterbath* dengan suhu 60°C dalam kondisi

diaduk secara terus menerus. Hasil dari pemanasan tersebut akan didapatkan ekstrak kental, lalu dilakukan pembuatan larutan stok

dengan menggunakan konsentrasi 0,07% dan pelarut (CMC) 1 gr yang dilarutkan dalam 1000 ml aquadest.



**Gambar 1.** Konsentrasi Perlakuan Ekstrak Daun Tembakau 0,00875%, 0,0175%, 0,035%, dan 0,07%.

Kontrol negatif (aquades dan CMC), kontrol positif (diberikan abate 1 mg dalam 99 ml air), perlakuan 1 (konsentrasi ekstrak daun tembakau 0,00875%: 12,5 ml larutan stok ditambah 87,5ml air), perlakuan 2 (konsentrasi ekstrak daun tembakau 0,0175%: 25 ml larutan stok ditambah 75 ml air), perlakuan 3 (konsentrasi ekstrak daun tembakau 0,035%: 50 ml larutan stok ditambah 50 ml air), Perlakuan 4 (konsentrasi ekstrak daun tembakau 0,07%: 100 ml larutan stok), dengan empat pengulangan, diamati setiap 6 jam selama 24 jam (gambar 1).

Analisis data dilakukan, uji normalitas (*Shapiro-wilk*) dan varians homogen (*Levene test*), perbedaan pada setiap variabel perlakuan terhadap kematian nyamuk (uji *Kruskal Wallis*). Selanjutnya dilakukan uji lanjut post hoc (*Mann Whitney*), lalu uji probit *Lethal Concentration*

dan *Lethal Time*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji pendahuluan dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan kontrol (+), kontrol (-), konsentrasi 0,025%, 0,05%, 0,075%, 0,01% menunjukkan adanya peningkatan kematian larva *Anopheles aconitus* yang tinggi, sehingga konsentrasi final yang digunakan untuk uji penelitian adalah 0,00875%, 0,0175%, 0,035%, dan 0,07%. Uji penelitian dilakukan pada 6 perlakuan selama 24 jam yang di amati setiap 6 jam dengan pengulangan sebanyak 4 kali. Ditinjau pada Tabel bahwa kelompok kontrol (+) yang dilakukan pemberian abate dijumpai adanya 100% kematian larva *Anopheles aconitus*, kelompok kontrol (-) yang dilakukan pemberian aquades dan CMC tidak dijumpai adanya kematian larva *Anopheles aconitus*, empat kelompok perlakuan yang dilakukan

pemberian ekstrak etanol daun tembakau dengan konsentrasi yang berbeda yaitu perlakuan 1 (0,00875%), perlakuan 2 (0,0175%), perlakuan 3 (0,035%), dan perlakuan 4 (0,07%) didapatkan angka kematian tertinggi yaitu pada perlakuan 4 dengan konsentrasi 0,07% menyebabkan 98%

kematian pada larva *Anopheles aconitus*. Berdasarkan hal tersebut dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun tembakau yang diberikan maka semakin tinggi pula tingkat kematian larva *Anopheles aconitus*.

**Tabel 1. Uji penelitian**

Perlakuan/ Konsentrasi	Pengulangan	Kematian Larva Setelah Diberi Ekstrak Daun Tembakau				Rata-Rata Kematian Perkonsentrasi pada jam ke 24	Persentase Kematian Perkonsentrasi pada jam ke 24
		Jam Ke-6	Jam Ke-12	Jam Ke-18	Jam Ke-24		
P0 (Kontrol -)	I	0	0	0	0	0	0%
	II	0	0	0	0		
	III	0	0	0	0		
	IV	0	0	0	0		
	Rata-Rata Kematian Perwaktu (jam)	0	0	0	0		
P1 (0,00875%)	I	1	2	2	5	6,25	25%
	II	2	4	4	5		
	III	0	2	2	7		
	IV	2	3	3	8		
	Rata-Rata Kematian Perwaktu (jam)	1,25	2,75	2,75	6,25		
P2 (0,0175%)	I	3	7	8	12	11,5	46%
	II	0	2	4	11		
	III	1	1	7	8		
	IV	2	2	11	15		
	Rata-Rata Kematian Perwaktu (jam)	1,5	3	7,5	11,5		
P3 (0,035%)	I	5	10	12	19	18,75	75%
	II	2	6	16	19		
	III	3	9	16	19		
	IV	7	9	16	18		
	Rata-Rata Kematian Perwaktu (jam)	4,25	8,5	15	18,75		
P4 (0,07%)	I	10	17	23	25	24,5	98%
	II	12	17	21	24		
	III	9	17	23	24		
	IV	11	17	24	25		
	Rata-Rata Kematian Perwaktu (jam)	10,5	17	22,75	24,5		
P5 (Kontrol +)	I	25	25	25	25	25	100%
	II	25	25	25	25		
	III	25	25	25	25		
	IV	25	25	25	25		
	Rata-Rata Kematian Perwaktu (jam)	25	25	25	25		

Penelitian ini dilakukan dengan uji *Shapiro-wilk*, data hasil uji normalitas menunjukkan distribusi data tidak normal ( $p > 0,05$ ). Uji homogenitas dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan uji *Levene*. diperoleh nilai sig (0,007)  $< 0,05$  dapat diasumsikan bahwa data tidak homogen. Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas diperoleh data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen. Selanjutnya dilakukan uji *kruskal-wallis* menunjukkan nilai sig (0,000)  $< 0,005$ , sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang bermakna antara setiap penelitian. Untuk mengetahui kelompok mana yang paling bermakna dalam menyebabkan kematian larva (Asymp. Sig.  $< 0,05$ ) dilakukan uji *Post hoc Mann-Whitney*.

**Tabel 4. Uji *Post hoc Mann-Whitney***

<i>Mann-Whitney</i>	<i>p</i>	Keterangan
K- dan P1	0,013	Berbeda bermakna
K- dan P2	0,014	Berbeda bermakna
K- dan P3	0,011	Berbeda bermakna
K- dan P4	0,013	Berbeda bermakna
K- dan K+ + dan P1	0,008	Berbeda bermakna
K+ dan P2	0,014	Berbeda bermakna
K+ dan P3	0,011	Berbeda bermakna
K+ dan P4	0,127	Tidak berbeda bermakna
P1 dan P2	0,028	Berbeda bermakna
P1 dan P3	0,017	Berbeda bermakna
P1 dan P4	0,019	Berbeda bermakna
P2 dan P3	0,018	Berbeda bermakna
P2 dan P4	0,019	Berbeda bermakna
P3 dan P4	0,017	Berbeda bermakna

Tampak semua perbandingan antar P0 (kontrol (-) aquadest dan CMC) dengan kelompok P1 (0,00875%), P2 (0,0175%), P3 (0,035%), P4 (0,07%) mempunyai nilai  $p < 0,05$  yang mempunyai arti adanya perbedaan bermakna, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun tembakau memiliki efek terhadap mortalitas larva *Anopheles aconitus*. P5 (kontrol (+) /abate) dengan kelompok P1 (0,00875%), P2 (0,0175%), P3 (0,035%), menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna yang artinya dosis tersebut kurang efektif diandingkan dengan abate. P5 (kontrol (+)/abate) dengan P4 (0,07%) menunjukkan nilai  $p > 0,05$  yang artinya tidak berbeda bermakna, sehingga dapat disimpulkan dosis 0,07% memiliki potensi yang hampir sama dengan abate 1mg.

Hasil Uji probit *lethal time* menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,07% didapatkan nilai LT50 9,877 jam yang artinya tidak melebihi batas waktu pengamatan sehingga konsentrasi ini efektif jika dipakai sebagai larvasida terhadap larva *Anopheles aconitus* instar III. Semakin tinggi konsentrasi yang diberikan pada larva uji, semakin banyak kandungan kimia yang terpajan pada larva uji, sehingga waktu yang dibutuhkan untuk membunuh larva menjadi semakin cepat.

Hasil dari analisis *probit lethal concentration* yang dilakukan pada masing-masing waktu pengamatan, terlihat nilai LC50 hingga jam ke-24 membutuhkan konsentrasi 0,025%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama pajanan untuk menimbulkan kematian larva 50% dari total larva uji maka dibutuhkan konsentrasi yang semakin tinggi.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Wijayanti dkk. (2015) bahwa tembakau memiliki efek sebagai larvasida terhadap larva *Culex quinquefasciatus* dengan dosis 0,005%, 0,011%, 0,018%, 0,031%, 0,066%, dan 0,095%. Pada dosis paling tinggi (0,095%) presentasi mortalitas *Culex quinquefasciatus* sebesar 90%, dengan pelarut tween 80. Pada penelitian ini, ekstrak daun tembakau dosis 0,07% dapat membunuh sebesar 98% larva. Sehingga dapat disimpulkan dengan menggunakan dosis rendah ekstrak tembakau sudah dapat menyebabkan kematian pada larva. Dimungkinkan larva *Anopheles aconitus* lebih rentan terhadap zat aktif pada ekstrak daun tembakau.

Berdasarkan hal tersebut dapat diduga bahwa ekstrak daun tembakau memiliki efek larvasida karena diduga memiliki senyawa aktif yaitu alkaloid, flavanoid, tanin, minyak atsiri

dan saponin yang bersifat toksik pada serangga, sehingga timbul kelemahan gerak otot-otot pernapasan, menyebabkan racun erut, racun kontak, menyebabkan gangguan nutrisi dan akhirnya menimbulkan kematian. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun tembakau memiliki kemampuan yang signifikan dalam membunuh larva *Anopheles aconitus* dapat dijadikan alternatif sebagai larvasida alami. (Handayani dkk., 2016).

## SIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak daun tembakau memiliki efek larvasida terhadap larva *Anopheles aconitus* instar III, terutama dosis 0,07% efektif membunuh 100% Larva *Anopheles conitus*, dan LC<sub>50</sub> ekstrak daun tembakau dan terhadap mortalitas larva *Anopheles aconitus* dalam 24 jam sebesar 0,025%. LT<sub>50</sub> ekstrak daun tembakau terhadap mortalitas larva *Anopheles aconitus* dengan konsentrasi 0,07% yaitu selama 9,877 jam.

Saran dari penelitian ini yaitu perlu penelitian lebih lanjut mengenai daya larvasida insektisida daun tembakau dalam bentuk sediaan lain yang bisa digunakan oleh masyarakat. Perlu dilakukan uji toxicitas ekstrak yang digunakan pada penelitian, untuk mengetahui larva tersebut mati karena ekstrak tembakau (*Nicotiana*

*tabacum* L.) atau pelarut-pelarut yang digunakan. Perlu dilakukan penelitian lanjut mengenai efektivitas ekstrak daun tembakau terhadap vektor-vektor penyakit yang lain.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Astriani, Y. dan Widawati, M. 2017. Potensi Tanaman Di Indonesia Sebagai Larvasida Alami Untuk *Aedes aegypti*. *Spirakel*. Vol.8,No.2.
- Fitriany, J. dan Ahmad, S. 2018. Malaria. *Jurnal Averrous*, Vol.4, No.2.
- Handayani, S. W., Dhian, P., Hasan, B., Ary, O., dan Arum, S. J. 2018. Efektivitas Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L) dari Semarang, Temanggung, dan Kendal Sebagai Larvasida *Aedes aegypti*. *Balaba: Jurnal Litbang Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang Banjarnegara*. Vol.14,No.1.
- Pramudyo, R.W., Albarda, A. dan Putra, A.B. 2015. Sistem Pencegahan Penyakit Menular Berbasis Informasi Spasial (Studi Kasus Dinas Kesehatan Kabupaten Sragen). *Jurnal Edukasi dan Penelitian Informatika (JEPIN)*, doi: 10.26418/jp.v1i1.10146.
- Wijayanti, M P., Sri,Y. dan Retno, H. 2015. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*) dengan Metode Maserasi Terhadap Mortalitas Larva *Culexquinquefasciatus* Say Di Laboratorium. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, Vol 3, No.1.
- World Health Organization (WHO). 2015. *Guidelines for the Treatment of Malaria*. World Health Organization.
- Yasmin, Y., Fitri, L. and Bustam, B. M. 2012. Analisis Efektifitas Tepung Jamur sebagai Larvasida *Aedes aegypti*. *Jurnal Natur Indonesia*. ISSN 1410-9379

# ANALISIS KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) DAN AKTIVITAS PENANGKAPAN RADIKAL BEBAS (PRB) EKSTRAK ETANOL LEMPUYANG EMPRIT (*Zingiber americans*) HASIL MASERASI SEKALI DAN MASERASI BERULANG

## ANALYSIS OF THIN LAYER CHROMATOGRAPHY AND RADICAL SCAVENGING ACTIVITY ETHANOL EXTRACTS OF LEMPUYANG EMPRIT (ZINGIBER AMERICANS) THE RESULT OF A MACERATION AND REMACERATION

Susi Indah Lestari, Broto Santoso

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

Email korespondensi: Broto.Santoso@ums.ac.id

### ABSTRAK

Metode ekstraksi menjadi penting dan dapat mempengaruhi ekstrak yang diperoleh. Rendemen hasil metode maserasi berulang didapatkan lebih tinggi dibandingkan maserasi. Penelitian ini ditujukan untuk membandingkan hasil analisis kromatografi lapis tipis (KLT) dan aktivitas penangkapan radikal bebas (PRB) ekstrak etanol rimpang lempuyang emprit (*Zingiber americans*) hasil maserasi sekali dan maserasi berulang. Simplisia diekstraksi dengan pelarut etanol 96% (rasio 10:75) menggunakan metode maserasi dan maserasi berulang masing-masing sebanyak empat kali replikasi. Setiap ekstrak dilakukan analisis kromatografi lapis tipis silika gel GF<sup>254</sup> menggunakan eluen heksana:etil asetat (9:1), dan dilanjutkan dengan uji penangkapan radikal bebas DPPH. Rendemen hasil maserasi dan maserasi berulang adalah 4,37% dan 6,83% ( $p < 0,05$ ) berturut-turut, sedangkan persen PRB-nya 21,63% dan 32,68% ( $p > 0,05$ ) secara berturut-turut. Hasil kromatogram menampakkan perbedaan intensitas bercak dan nilai  $R_f$ . Bercak yang tidak terelusi menunjukkan kemampuan dalam menangkap radikal bebas, dimana sebagian bercak menunjukkan bahwa ekstrak mengandung golongan senyawa terpenoid, flavonoid, dan alkaloid, namun tidak fenolik. Kesimpulan penelitian ini bahwa maserasi dan maserasi berulang memiliki aktivitas PRB yang tidak berbeda, dengan kandungan terpenoid, flavonoid, dan alkaloid yang lebih tinggi pada maserasi berulang.

**Kata Kunci:** Lempuyang Emprit, Maserasi, Maserasi Berulang, Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas, Kromatografi Lapis Tipis

### ABSTRACT

Extraction method is important because has high impact to the final result of extract. The repeated maceration yield (rMAC) is higher than maceration (MAC) method. The aim of the research was to compare the results of chromatogram profile and free radical scavenging activity of ethanol extracts of lempuyang emprit (*Zingiber americans*) between both of methods. Crude material was extracted using 96% ethanol (ratio 10:75) four times for each method. Extracts were analyzed using TLC plate of silica gel GF<sup>254</sup> as stationary phase and hexane-ethyl acetate (9:1) as mobile phase. Their radical scavenging activity were done using DPPH method. The yield of maceration repeated maceration results was 4.37% and 21.63% ( $p < 0.05$ ), respectively, while the percentage of PRB was 6.83% and 32.68% ( $p > 0.05$ ), respectively. The chromatogram results showed the difference in spot intensity and the  $R_f$  value. The uneluted spots showed the activity of radical scavenging. The spots reveal that terpenoid, flavonoid, and alkaloid groups but not phenolic were found in both of extract. Further purification needed to be done to confirm the % PRB value that did not differ from the two extracts

**Keywords:** Lempuyang Emprit, Maceration, Repeated Maceration, Radical Scavenging Activity, Thin Layer Chromatography

**How To Cite:** Lestari, S., & Santoso, B. (2021). ANALISIS KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) DAN AKTIVITAS PENANGKAPAN RADIKAL BEBAS (PRB) EKSTRAK ETANOL LEMPUYANG EMPRIT (*Zingiber americans*) HASIL MASERASI SEKALI DAN MASERASI BERULANG. *Biomedika*, 13(1), 76-82. doi:<https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.11439>

**DOI:** <https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.11439>

## PENDAHULUAN

Kandungan senyawa dengan aktivitas penangkap radikal bebas dalam ekstrak berperan aktif dalam pengobatan, dimana konsentrasi senyawa akan dipengaruhi dari teknik ekstraksi yang merupakan kunci dalam memperoleh semua senyawa aktif target (Ghasemzadeh *et al.*, 2010). Pemilihan teknik ekstraksi mempengaruhi hasil jumlah dan jenis kandungan senyawa dalam ekstrak (Yusnawan, 2018). Yeshak *et al.* (2012) membuktikan bahwa terdapat perbedaan sepersepuluh bagian untuk besar rendemen ekstrak pada 1 dari 4 siklotida yang digunakan, dimana sebagian besar perlakuan didapati penambahan 9% rendemen. Famili *Zingiberaceae* diketahui sebagai tanaman sumber antioksidan, salah satu spesiesnya adalah lempuyang emprit (*Zingiber americans*) (Da'i *et al.* 2018).

Salah satu sesquiterpen, yaitu zerumbon, merupakan kandungan terbesar lempuyang emprit dapat larut dalam heksana atau etanol (Sukari *et al.*, 2008). Nilai *half maximal inhibitory concentration* (IC<sub>50</sub>) penangkapan radikal bebas zerumbon sebesar 105,08 µg/mL, namun nilai *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) lebih rendah 3,6

kalinya dibandingkan dengan vitamin C (Sidahmed *et al.*, 2015; Da'i *et al.*, 2018). Profil kromatogram dari hasil maserasi dan perkolasi terdapat perbedaan dalam jumlah bercak yaitu berturut-turut tiga dan lima bercak, karena kandungan kimia dalam ekstrak hasil maserasi memiliki konsentrasi yang kecil sehingga tidak dapat terdeteksi.

Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan hasil kromatografi lapis tipis dan aktivitas penangkapan radikal bebas ekstrak etanol lempuyang emprit (*Zingiber americans*) hasil maserasi sekali dan maserasi berulang.

## METODE

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat-alat gelas (pyrex), neraca analitik OHAUS Pioneer, labu alas datar, kondensor allihn, *magnetic stirrer*, *hot plate* (Cimarec thermo scientific), *vacuum rotary evaporator* (Heidolph), *waterbath* (Memmert), mikropipet (Socorex), spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV mini-1240, *microtube*, kuvet (Hellma), *sonicator* (Branson), lampu UV portable, pipa kapiler, bejana komatografi lapis tipis (KLT).

Bahan yang digunakan yaitu rimpang lempuyang emprit yang diperoleh dari Dusun Pijenan, Desa Bakalan, Kecamatan Jumapolo,

Kabupaten Karanganyar, etanol 96%, etanol p.a (Agung Jaya), air suling, larutan pereaksi anisaldehyd-asam sulfat, feri klorida, dragendorff, sitroborat, 2,2 Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), dan lempeng KLT GF<sub>254</sub>

### Preparasi Simplisia

Rimpang yang telah dideterminasi di Laboratorium FKIP UMS disortir berdasarkan ukuran, warna, dan bau. Rimpang terpilih dicuci, dikupas, dirajang, dan dikeringkan di bawah sinar matahari dengan pembatas kain hitam. Rimpang kering diserbuk menggunakan blender lalu disimpan dalam wadah tertutup.

### Ekstraksi Rimpang Lempuyang Emprit

Metode maserasi sekali dilakukan dengan cara merendam 100 gram serbuk dalam etanol 96% selama 3 jam dengan pengadukan manual pada jam ke 0, 1, dan 2. Hasil dipisahkan antara filtrat dan residu menggunakan Buchner. Filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60°C lalu dikentalkan di atas *waterbath* sehingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak disimpan pada kulkas. Maserasi dilakukan dengan orientasi dan replikasi tiga kali.

Maserasi berulang dikerjakan dengan cara melarutkan 100 gram serbuk dalam etanol 96% menggunakan labu alas datar yang

terhubung kondensor Allihn dengan kecepatan pengadukan 350 rpm yang dihentikan setelah 1 jam. Hasil dipisahkan antara filtrat dan residu dengan Buchner. Proses ini diulangi hingga 4 kali. Total filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60°C lalu dikentalkan di atas *waterbath*. Ekstrak kental yang didapatkan disimpan pada kulkas. Maserasi berulang dilakukan dengan orientasi dan replikasi tiga kali.

### Penentuan Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas

Penentuan panjang gelombang maksimal dilakukan dengan mengambil 500,0 µL larutan DPPH 0,8 mM dan ditambahkan etanol p.a hingga volume akhirnya adalah 2,5 mL di dalam mikrotube dan diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 400-800 nm dengan blanko etanol p.a. Panjang gelombang maksimal DPPH secara teoritis yaitu 517 nm. Larutan stok dibuat dalam konsentrasi 1200 µg/mL, diencerkan menjadi 200 µg/mL lalu ditambahkan etanol dan larutan DPPH masing-masing sebanyak 500,0 µL. Campuran diinkubasi dalam kondisi terhindar cahaya selama 45 menit dan dilakukan pengukuran. Apabila dari hasil pengujian skrining 200 µg/mL

menunjukkan nilai % PRB  $\geq$  50% maka pengujian dilanjutkan dengan IC<sub>50</sub>.

### Analisis Kromatografi Lapis Tipis

Kromatogram ekstrak diperoleh dengan cara KLT dengan kadar sampel 0,1 µg/mL pada lempeng silika gel GF<sub>254</sub> dan menggunakan fase gerak heksana:etil asetat (9:1) dan bercak yang terbentuk diamati pada sinar UV254 nm dan 366 nm. Dalam identifikasi senyawa, plat KLT disemprot dengan pereaksi anisaldehyd-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, FeCl<sub>3</sub>, sitroborat, dragendorff, dan DPPH yang kemudian dibandingkan dengan kontrol positif 1,0 mg/mL. Kontrol positif yang digunakan yaitu mentol, kuercetin, asam galat, vitamin E, dan piperin.

### Analisis Data

Analisis data secara statistika dilakukan uji distribusi data dengan uji Shapiro Wilk. Data terdistribusi normal dilanjutkan uji T independent. Data terdistribusi tidak normal dilanjutkan uji Mann Whitney.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak yang didapatkan berupa ekstrak kental berwarna coklat kehitaman untuk kedua metode. Rendemen maserasi berulang lebih tinggi 1,6 kalinya dibandingkan maserasi sekali (tabel 1) yang berbeda signifikan (uji T,  $p < 0,05$ ). Selain faktor pengadukan, adanya

perbedaan rendemen dikarenakan jumlah pelarut yang digunakan berbeda, pengaruh efektivitas dan total lama penyarian.

**Tabel 1. Rendemen Dan Persen Penangkapan Radikal Bebas Maserasi Dan Maserasi Berulang Ekstrak Etanol Rimpang Lempuyang Emprit (n=4)**

Metode	Rendemen (rerata±SD)	% PRB (rerata±SD)
Maserasi	4,37±0,14	21,63±5,89
Maserasi Berulang	6,83±1,15	32,68±6,99

Hasil skrining awal untuk uji PRB ekstrak pada kadar 200 ppm diperoleh nilai kurang dari 50% (tabel 1) yang tidak terdapat perbedaan secara signifikan (uji T,  $p > 0,05$ ). Kadar 200 ppm dipilih karena batas tertinggi suatu sampel dapat dinyatakan masih aktif sebagai antioksidan (Da'i *et al*, 2018).

### Profil Kromatografi Lapis Tipis

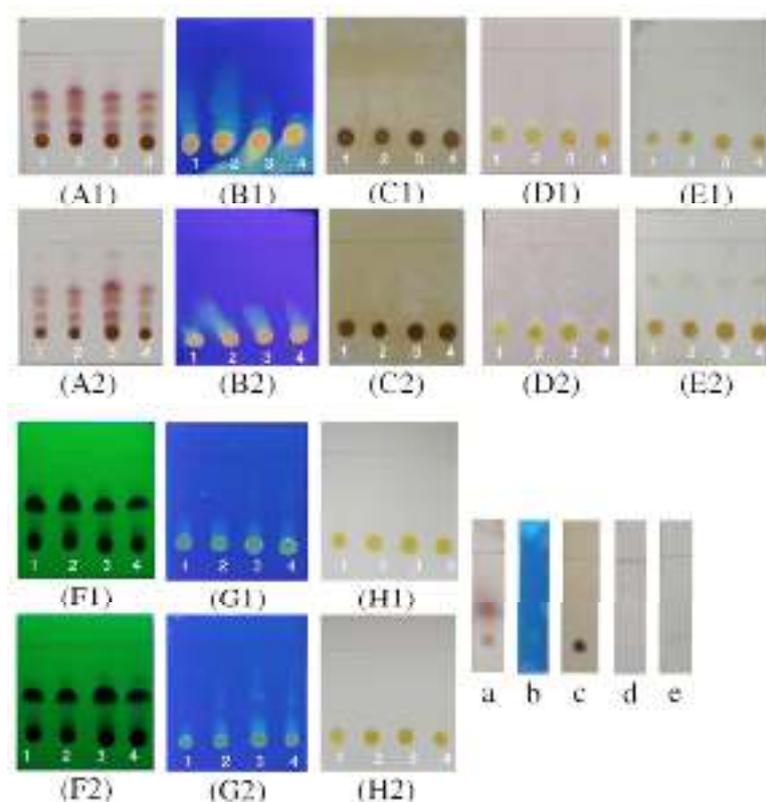
Kromatogram hasil maserasi dan maserasi berulang menunjukkan perbedaan pada intensitas bercak dan nilai R<sub>f</sub> (tabel 2 dan gambar 1). Perbedaan tersebut karena kandungan kimia dalam ekstrak hasil maserasi kemungkinan memiliki konsentrasi yang lebih kecil sehingga tidak dapat terdeteksi, sedangkan nilai R<sub>f</sub> yang diperoleh digunakan untuk mengidentifikasi senyawa.

Uji KLT dilakukan untuk mengidentifikasi suatu senyawa dalam rimpang. Identifikasi golongan senyawa metabolit

dilakukan menggunakan larutan pereaksi penyemprot. Kromatogram menunjukkan bahwa kelompok senyawa pada bercak yang tidak terelusi memiliki kemampuan penangkapan radikal bebas dikarenakan memiliki polaritas yang mirip dengan fase diam silika yang mempunyai gugus hidroksil sebagai pengikatnya. Sebagian bercak lainnya menampakkan kandungan senyawa golongan

terpenoid, flavonoid, dan alkaloid tetapi tidak ditemukan adanya senyawa fenolik.

Hasil uji KLT pada penyemprotan lempeng menggunakan pereaksi anisaldehyd menampakkan bercak yang sama dengan kontrol positif (mentol) yaitu berwarna biru violet dan kuning pada sinar tampak (gambar 1 dan tabel 2), sehingga kemungkinan ekstrak mengandung terpenoid.



**Gambar 1.** Hasil KLT ekstrak etanol lempuyang emprit menggunakan fase diam silika gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak n-heksan:etil asetat (9:1), (1) maserasi, (2) maserasi berulang, lempeng disemprot dengan pereaksi (A) Anisaldehyd, (B) Sitroborat, (C) FeCl<sub>3</sub>, (D) DPPH, (E) Dragendorff, (F) Sinar UV<sub>254nm</sub>, (G) Sinar UV<sub>366nm</sub>, (H) Sinar tampak: (1) Orientasi, (2-3) Replikasi 1-3. (a-e) Kontrol positif.

Bercak keempat menampilkan nilai R<sub>f</sub> yang tinggi, sehingga dimungkinkan mengandung senyawa yang bersifat non polar.

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan pereaksi semprot sitroborat yang

hasilnya muncul bercak berwarna berfluoresensi kuning kehijauan pada sinar UV<sub>366</sub> sama seperti kontrol positif (kuersetin), sehingga kemungkinan ekstrak mengandung senyawa flavonoid. Bercak totalan setelah disemprot

tidak mengalami pemisahan, sehingga dimungkinkan golongan senyawa bersifat polar.

Pereaksi  $\text{FeCl}_3$  yang disemprotkan pada lempeng KLT menampilkan bercak warna coklat pada sinar tampak, sedangkan pada kontrol positif (asam galat) menampilkan warna abu-abu biru, sehingga ekstrak dimungkinkan tidak mengandung fenolik karena tidak berwarna seperti kontrol positif. Bercak pada lempeng maserasi berulang memiliki intensitas warna yang lebih pekat dibandingkan lempeng maserasi dilihat pada sinar tampak dan tidak mengalami pemisahan, sehingga

dimungkinkan bersifat polar karena tertahan di fase diam. Analisis kualitatif untuk uji penangkapan radikal bebas menggunakan pereaksi semprot DPPH yang menunjukkan bercak berwarna kuning dengan latar belakang berwarna ungu sama seperti kontrol positif (vitamin E), sehingga kemungkinan adanya senyawa yang bertanggung jawab atas aktivitas penangkapan radikal bebas pada ekstrak. Bercak pemisahan yang terbentuk berada di bawah sehingga dimungkinkan bersifat polar. Senyawa alkaloid diidentifikasi dengan pereaksi Dragendorff.

**Tabel 2. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Ekstrak Etanol Lempuyang Emprit, (I-IV) Totalan Ekstrak, (1-4) Nilai Rf Dari Bercak Yang Tampak**

Identi- fikasi	Perlakuan (nilai R <sub>f</sub> )		Kelom- pok se- nyawa
	Maserasi	Maserasi Berulang	
UV <sub>254</sub>	I: 0,4 (1); 0,56 (2); II: 0,4 (1); 0,64 (2) III, IV: 0,36 (1); 0,56 (2)	I, II, IV: 0,44 (1); 0,64 (2); III: 0,44 (1); 0,68 (2)	-
UV <sub>366</sub>	I: - II: 0,64 (1); III: 0,52 (1) IV: 0,52 (1); 0,68 (2)	I: - II: 0,48 (1); 0,6 (2); III: 0,52 (1); 0,68 (2) IV: 0,4 (1); 0,68 (2)	-
Anisal- dehid	I: 0,16 (1); 0,36 (2); 0,48 (3); 0,92 (4); II: 0,16 (1); 0,40 (2); 0,56 (3); 0,92 (4) III, IV: 0,16 (1); 0,32 (2); 0,48 (3); 0,92 (4)	I, II: 0,16 (1); 0,32 (2); 0,44 (3); 0,88 (4); III: 0,16 (1); 0,36 (2); 0,52 (3); 0,88 (4); IV: 0,16 (1); 0,36 (2); 0,44 (3); 0,88 (4)	Terpenoi d
DPPH	I-III: 0,16(1) IV: -	I-III: 0,16(1) IV: -	Aktivi- tas PRB
Dragendor ff	I, II, IV: 0,4 (1) III: 0,44 (1)	I, II: 0,56 (1) III, IV: 0,52 (2)	Alkaloid
Sinar tampak; sitroborat; $\text{FeCl}_3$	- - -	- - -	- Flavo- noid Fenolik

Perubahan warna lempeng KLT setelah disemprot menunjukkan warna kuning oranye sehingga dimungkinkan ekstrak mengandung senyawa alkaloid. Bercak yang muncul pada lempeng maserasi berulang memiliki intensitas lebih tebal dibandingkan lempeng maserasi dan berada di tengah lempeng sehingga dimungkinkan bersifat semi polar.

### SIMPULAN DAN SARAN

Ekstrak hasil maserasi dan maserasi berulang pada pengujian aktivitas penangkapan radikal bebas menunjukkan % PRB yaitu 21,63% dan 32,68% yang tidak terdapat perbedaan secara signifikan, sedangkan hasil kromatogram menampakkan perbedaan intensitas bercak dan nilai  $R_f$ . Bercak yang tidak terelusi menunjukkan kemampuan dalam menangkap radikal bebas, sedangkan sebagian bercak menunjukkan bahwa ekstrak mengandung golongan senyawa terpenoid, flavonoid, dan alkaloid.

### DAFTAR PUSTAKA

Da'i, M., Setiawan, D. and Melannisa, R. 2018. Potency of Radical Scavenging Activity and Determination of Total Phenolic

Content of Five Ethanolic Extract of Rhizome Zingiberaceae Family. *Indones. J. Cancer Chemoprevent.* 4(1). p: 457. doi: 10.14499/indonesianjcanchemoprev4iss1pp457-462.

Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z. E. and Rahmat, A. 2010. Antioxidant Activities, Total Phenolics and Flavonoids Content in Two Varieties of Malaysia Young Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules.* 15(6). Pp: 4324–4333. doi: 10.3390/molecules15064324.

Sidahmed, H. M. A. Hashim, N.M., Abdulla, M. A., Ali, H.M., Mohan, S., Abdelwahab, S. I., Taha, M.M.E., Fai, L.M., and Vadivelu, J. 2015. Antisecretory, Gastroprotective, Antioxidant and Anti-Helicobacter Pylori Activity of Zerumbone from Zingiber Zerumbet (L.) Smith. *PLoS One.* 10(3). Pp: 1–21. doi: 10.1371/journal.pone.0121060.

Sukari, M. A., Mohd Sharif, N.W., Yap, A.L.C., Tang, S.W., Neoh, B.K., Rahmani, M., Ee, G.C.L., Taufiq-Yap, Y.H., and Yusof, U.K. 2008. Chemical Constituents Variations of Essential Oils From Rhizomes of Four Zingiberaceae Species. *Diversity.* 12(3). Pp: 638–644.

Yeshak, M.Y., Burman, R., Eriksson, C., and Goransson, 2012. Optimization of cyclotide extraction parameters. *Phytochem. Lett.* 5. Pp: 776–81.

Yusnawan, E. 2018. Effects of Different Extraction Methods on Total Phenolic Content and Antioxidant Activity in Soybean Cultivars. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 102. p: 12039. doi: 10.1088/1755-1315/102/1/012039.

# DIABETES MELITUS SEBAGAI FAKTOR RISIKO KEPARAHAN DAN KEMATIAN PASIEN COVID-19: META-ANALISIS

## DIABETES MELLITUS AS A RISK FACTOR FOR SEVERITY AND MORTALITY OF COVID-19: A META-ANALYSIS

Nining Lestari, Burhannudin Ichsan

Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Surakarta

Korespondensi: dr. Nining Lestari, MPH. Alamat email: nl209@ums.ac.id

### ABSTRAK

COVID-19 merupakan penyakit infeksi saluran nafas akut yang disebabkan oleh Coronavirus tipe SARS-Cov-2. COVID-19 masih menjadi ancaman seluruh dunia karena morbiditas dan mortalitasnya yang tinggi. Tingkat keparahan dan kematian pasien COVID-19 dipengaruhi oleh diabetes melitus, hipertensi, usia dan obesitas. Namun saat ini masih terdapat kontroversi dalam hasil penelitian mengenai faktor komorbid diabetes mellitus tipe 2 (DM tipe 2) pada COVID-19. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh antara DM tipe 2 terhadap keparahan dan kematian COVID-19. Artikel diambil dari PubMed, ScienceDirect, Google Scholar, ProQuest, dan Springer Link. Artikel yang dianalisis adalah artikel yang diterbitkan Desember 2019- Agustus 2020, fulltext dengan desain studi observasional, analisis multivariat, dan mencantumkan adjusted odds ratio (aOR). Kata kunci yang dipakai untuk pencarian artikel adalah (Type 2 diabetes mellitus OR diabetic) AND (mortality OR severity) AND (COVID-19 OR Coronavirus OR SARS-CoV-2) AND ("adjusted odds ratio" OR "aOR"). Artikel dikumpulkan dengan diagram PRISMA dan dianalisis dengan Review Manager application 5.4 dengan model analisis random effect. Penelitian ini menganalisis 10 artikel dan mendapati bahwa DM tipe 2 meningkatkan keparahan COVID-19 (aOR = 1,15; 95% CI= 1,11-2,15; p= 0,004) meningkatkan kematian COVID-19 (aOR = 1,65; 95% CI = 1,27-2,16; p< 0,001). Kesimpulannya bahwa diabetes melitus tipe 2 meningkatkan risiko keparahan dan kematian pasien COVID-19.

**Kata kunci:** Diabetes Melitus, Keparahan, Kematian, COVID-19

### ABSTRACT

COVID-19 is an acute airway infection caused by Coronavirus (SARS-Cov-2). COVID-19 remains a worldwide threat due to its high morbidity and mortality. The severity and mortality of COVID-19 patients are mainly affected by diabetes mellitus, hypertension, age, and obesity. This study aims to determine the influence of type 2 diabetes mellitus on the severity and mortality of COVID-19. This was a systematic review and meta-analysis. The articles were obtained from PubMed, ScienceDirect, Google Scholar, ProQuest, and Springer Link. The articles were published from December 2019- August 2020, full-text articles with observational study design, multivariate analysis, and (adjusted odds ratio/aOR). Keywords to search for articles were (Type 2 diabetes mellitus OR diabetic) AND (mortality OR severity) AND (COVID-19 OR Coronavirus OR SARS-CoV-2) AND ("adjusted odds ratio" OR "aOR"). Articles collected using the PRISMA diagram and analyzed using Review Manager application 5.4 with a random effect model. Ten studies were included in the meta-analysis. The results showed that Type 2 DM increased the severity of COVID-19 (aOR = 1.15; 95% CI= 1.11-2.15; p = 0.04) and the mortality of COVID-19 (aOR = 1.65; 95% CI = 1.27-2.16; p <0.001). Conclusion: Type 2 diabetes mellitus increased the severity and mortality of COVID-19.

**Keywords:** Diabetes Mellitus, Severity, Mortality, COVID-19

**How To Cite:** Lestari, N., & Ichsan, B. (2021). DIABETES MELITUS SEBAGAI FAKTOR RISIKO KEPARAHAN DAN KEMATIAN PASIEN COVID-19: META-ANALISIS. *Biomedika*, 13(1), 83-94. doi:<https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.13544>

**DOI:** <https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.13544>

## PENDAHULUAN

COVID-19 disebut juga *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2* (SARS-CoV-2), adalah penyakit infeksi saluran napas akut yang disebabkan oleh coronavirus yang dilaporkan pertama kali pada bulan Desember 2019 di Wuhan, China (Huang *et al.*, 2020). Virus tersebut menyebar dengan cepat ke seluruh dunia dan menyebabkan pandemi dengan jumlah kasus total yang dilaporkan sampai dengan 31 Juli 2020 sebanyak lebih kurang 17,1 juta jiwa dan menyebabkan kematian sekitar 700 ribu jiwa (WHO, 2020a). Di Amerika Serikat, jumlah kasus mencapai 9 Juta orang dengan total kematian hingga 350 ribu kematian, disusul Eropa dan Asia Tenggara dengan jumlah kasus 2-3 juta orang dan kematian mencapai 40 ribu orang di Asia Tenggara serta 200 ribu orang di Eropa (WHO, 2020a).

Berdasarkan laporan-laporan yang telah ada, manifestasi klinis COVID-19 sangat bervariasi. Manifestasi klinis tersebut antara lain dapat berupa demam, batuk, batuk berdarah, nyeri kepala, lemas, sesak nafas, anosmia, mata merah dan diare (Feng *et al.*, 2020; Hu *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2020; F. Zhou *et al.*, 2020). Masa inkubasi virus COVID-19 berkisar 1-14

hari, rata-rata gejala mulai muncul pada hari kelima, sedangkan gejala sesak nafas dan pneumonia dapat muncul pada hari ke delapan setelah gejala klinis muncul (Hu *et al.*, 2020). Gejala klinis dapat berbeda-beda pada masing-masing individu karena pengaruh faktor komorbid. Sebagian besar pasien COVID-19 memiliki penyakit komorbid seperti diabetes melitus, hipertensi, penyakit kardiovaskuler, dan penyakit liver kronis. Pasien-pasien yang memiliki komorbid tersebut lebih sering mengalami perburukan dan kematian (Ye *et al.*, 2020).

Sebelum pandemi COVID-19, penderita diabetes melitus (DM) di seluruh dunia mencapai 422 juta orang tahun 2016 (WHO, 2016) dan tahun 2019 meningkat menjadi 463 juta orang (IDF, 2019). Angka tersebut memberikan gambaran bahwa selama pandemi COVID-19, akan banyak penderita diabetes melitus yang perlu mendapat perhatian karena diabetes melitus dianggap berhubungan erat dengan keparahan dan kematian pada pasien COVID-19 (Rajpal *et al.*, 2020). Hasil meta-analisis yang dilakukan Pinedo-Torres *et al.* (2020) menyebutkan bahwa kejadian diabetes melitus adalah sebesar 42 kasus per 1000 pasien terinfeksi COVID-19, dengan angka kematian

sebesar 10 % (Pinedo-Torres *et al.*, 2020).

Penelitian lain menyebutkan tidak ada hubungan signifikan antara DM terhadap peningkatan keparahan dan kematian COVID-19 (Cariou *et al.*, 2020). Mekanisme bagaimana orang dengan diabetes melitus mudah terkena infeksi COVID-19 dan lebih berisiko mengalami kematian masih terus diteliti untuk mencegah dampak yang lebih parah lagi (Cariou *et al.*, 2020). Hal tersebut diatas membuat analisis mengenai faktor komorbid Diabetes Melitus pada kasus infeksi COVID-19 menjadi diperlukan, agar strategi untuk melindungi kelompok-kelompok berisiko tinggi terhadap infeksi COVID-19 menjadi lebih tepat. Pada penelitian meta-analisis ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh diabetes melitus terhadap keparahan dan kematian pada pasien COVID-19.

## **METODE**

Penelitian ini merupakan *Systematic Review dan* meta-analisis. Artikel yang digunakan dalam penelitian ini adalah artikel yang telah diterbitkan pada Desember 2019 sampai Agustus 2020. Artikel diperoleh dari database Google Scholar, PubMed, ProQuest, Science Direct, dan Springer Link. Kata kunci yang digunakan dalam menemukan artikel

adalah adalah (*Type 2 diabetes mellitus OR diabetic*) *AND* (*mortality OR severity*) *AND* (*COVID-19 OR Coronavirus OR SARS-CoV-2*) *AND* ("*adjusted odds ratio*" *OR* "*aOR*").

Artikel yang termasuk dalam penelitian ini adalah artikel dengan studi observasional yang telah diterbitkan dari Desember 2019-Agustus 2020. Artikel yang dipilih membahas pengaruh diabetes melitus sebagai penyebab keparahan dan kematian pada pasien COVID-19 yang diterbitkan dalam bahasa Inggris. Sampel penelitian adalah pasien yang terkonfirmasi positif COVID-19. Hasil akhir penelitian dilaporkan menggunakan adjusted Odds Ratio (aOR).

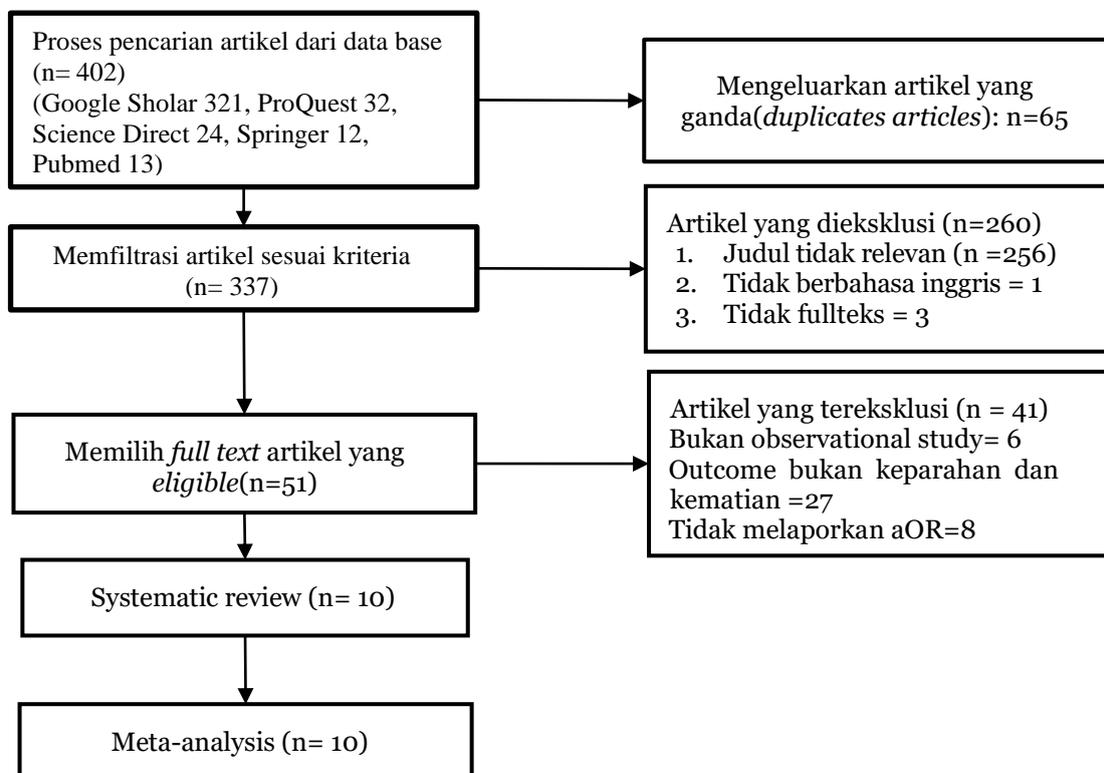
Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah artikel studi observational, analisis multivariat, pasien COVID-19 dewasa, dan DM tipe 2. Kriteria eksklusi dalam penelitian ini adalah artikel dengan RCT, kuasi eksperimen, artikel tidak diterbitkan dalam bahasa Inggris, pasien anak dan hasil statistik yang tidak melaporkan aOR.

Data diproses menggunakan Review Manager (RevMan 5.4) dengan menghitung perbedaan hasil antar variabel (*effect size*) dan memberikan estimasi efek gabungan serta variasi atau heterogenitas dari semua penelitian.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses pencarian artikel menggunakan database pencarian jurnal yang ditunjukkan pada Gambar 1. Proses meta-analisis dimulai dengan identifikasi jurnal yaitu mencari jurnal dari *data base* dengan kata kunci yang ditetapkan, hasilnya didapatkan 402 artikel. Langkah selanjutnya adalah membuang artikel yang sama (*removing duplicate articles*) dilanjutkan dengan

proses filtrasi sehingga didapatkan 10 artikel yang *eligible* untuk dilakukan meta-analisis. Metaanalisis dalam penelitian ini dibagi menjadi dua kelompok yaitu 4 artikel dilakukan meta-analisis DM tipe 2 dengan keparahan COVID-19 sedangkan 6 artikel lainnya dilakukan meta-analisis DM tipe 2 dengan kematian pasien COVID-19.



**Gambar 1.** Diagram alur proses pencarian artikel dengan PRISMA

Artikel dalam penelitian ini berasal dari benua Asia, Eropa, Amerika Utara dan Amerika Selatan dimana kasus COVID-19 paling banyak tersebar di tiga benua ini (WHO, 2020a)

### Diabetes Melitus tipe 2 terhadap keparahan pasien COVID-19

Tabel 1 menunjukkan 4 artikel studi observasional yang melaporkan diabetes melitus sebagai penyebab keparahan pada pasien COVID-19. Total subyek penelitian adalah

10.807 orang dimana subyek dengan komorbid diabetes melitus sebanyak 2.129 orang (Bravi *et al.*, 2020; Gottlieb *et al.*, 2020; Killerby *et al.*, 2020; Ryan *et al.*, 2020).

**Tabel 1. Pengaruh Diabetes Melitus Terhadap Keparahan Pasien COVID-19**

Penulis (Tahun)	Negara	Total sampel	Keparahan COVID-19		
			aOR	SE	95% CI
Bravi <i>et al.</i> (2020)	Itali	Total:1.603 DM:193 dan Non-DM:1.410	1,52	0,1878	1,05-2,18
Gottlieb <i>et al.</i> (2020)	Illinois, USA	Total:8.673 DM:1.269 dan Non-DM:7.404	1,21	0,1343	0,93-1,58
Killerby <i>et al.</i> (2020)	Georgia, USA	Total:531 DM:111 dan Non-DM:420	3,1	0,3065	1,7-5,9
Ryan <i>et al.</i> (2020)	Michigan, USA	Total:556 DM:172 dan Non-DM:384	1,32	0,2776	0,83-2,09

Kriteria inklusi: artikel dengan studi observational, analisis multivariat, dengan melaporkan aOR, populasi sampel yaitu pasien diabetes melitus dewasa, *outcome* adalah keparahan COVID-19. Heterogenitas :  $Tau^2 = 0.07$ ;  $Chi^2 = 8.14$ ,  $df=3$  ( $p= 0.04$ );  $I^2 = 63\%$   
Test for overall effect;  $Z = 2.59$  ( $p= 0.010$ ).

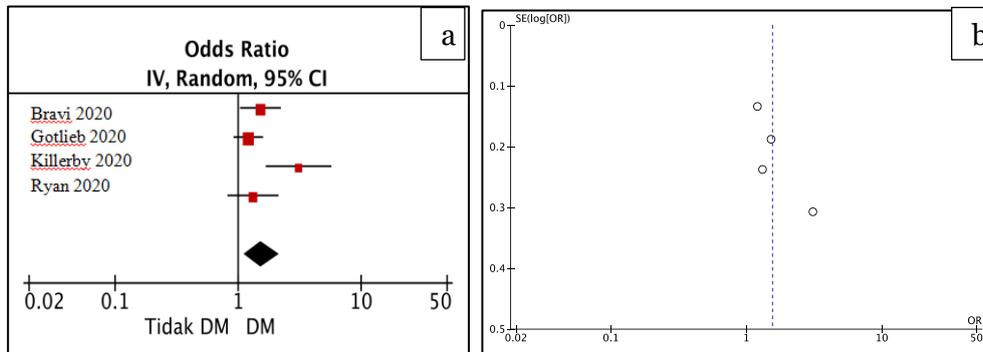
Penelitian dengan meta-analisis mempunyai kelebihan karena mengontrol faktor-faktor perancu yang dapat dilihat dari persyaratan inklusi studi yang menggunakan analisis multivariat dan melaporkan adjusted odds ratio (aOR) (Lee, 2019). Hasil penelitian meta-analisis disajikan dalam bentuk *forest plot* dan *funnel plot*. *Forest plot* menunjukkan secara visual besarnya variasi (heterogenitas) sedangkan *Funnel Plot* menunjukkan hubungan antara ukuran efek studi dan ukuran sampel dari berbagai studi yang dipelajari (Lee, 2019).

Gambar 2a menunjukkan *forest plot* pengaruh diabetes melitus tipe 2 terhadap keparahan pasien COVID-19. Penelitian ini memiliki heterogenitas ( $I^2$ ) = 63 %, artinya

semua artikel tersebut heterogen sehingga digunakan model *Random Effect*. Berdasarkan Gambar 2a dapat dilihat bahwa analisis dengan *random-effect model* menghasilkan *pooled odds ratio* sebesar 1,55 (95% CI=1,11-2,15) yang secara statistik hasilnya signifikan ( $p= 0,04$ ). Dari hasil *forest plot* tersebut disimpulkan bahwa pasien dengan diabetes melitus tipe 2 dapat meningkatkan keparahan pasien COVID-19 sebesar 1.55 kali dibandingkan dengan pasien COVID-19 yang tidak menderita diabetes melitus. *Effect size* dari meta-analisis ini merupakan gabungan *effect size* (kekuatan hubungan antar variabel) dari masing-masing studi yang dilakukan dengan teknik statistika tertentu. Pembuat meta-analisis pada umumnya

tidak memiliki data dasar penelitian, sehingga dimensi *effect size* yang digabungkan dalam meta-analisis sama dengan yang dilaporkan

dalam artikel yang digabungkan. Dalam hal ini digabungkan aOR dari masing-masing penelitian tersebut.



**Gambar 2.** Forest plot (a) dan Funnel plot (b) pengaruh diabetes terhadap keparahan COVID-19  
Keterangan gambar : kotak merah (■) menggambarkan OR masing-masing studi, garis horizontal (—) menggambarkan CI 95%, dan gambar diamond hitam (◆) menggambarkan pooled OR. SE= Standard Error, o = mewakili artikel, garis putus-putus vertical (---) adalah center line untuk melihat kesimetrisan plot.

Dalam penelitian meta-analisis perlu dilihat adanya pengaruh bias publikasi. Bias publikasi dapat dimungkinkan karena adanya kecenderungan beberapa penelitian tidak dipublikasikan apabila hasil  $p < 0,05$ . Teknik yang digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan bias publikasi pada penelitian ini adalah dengan menggunakan *funnel plot*. Gambar 2b. menunjukkan *funnel plot* pengaruh DM terhadap keparahan COVID-19. Plot kiri memiliki *Standard Error*: 0,1 -0,3 sementara plot di sebelah kanan memiliki *Standard Error* :0,3. Gambar funnel plot diatas memperlihatkan distribusi penelitian tidak simetris, dimana sebaran penelitian tidak seimbang di kiri dan kanan batas center line. Sehingga bisa disimpulkan bias publikasi mempengaruhi

pengaruh diabetes melitus dengan kematian COVID-19.

Pada penelitian ini, keparahan COVID-19 akibat DM tipe 2 dianalisis dari 4 studi pada tabel 1 dengan melihat gejala klinis yang memburuk, lama perawatan di RS dan pasien yang memerlukan perawatan intensif (Bravi *et al.*, 2020; Gottlieb *et al.*, 2020; Killerby *et al.*, 2020; Ryan *et al.*, 2020). Dari studi lain juga menyebutkan pasien COVID-19 yang dirawat di Rumah Sakit lebih sering mengalami keparahan yang ditandai dengan peningkatan jumlah pasien yang memerlukan perawatan ICU sebesar 1,49 kali lebih banyak daripada pasien COVID-19 tanpa diabetes melitus (95% CI: 1,07-2,09;  $p=0,019$ ) (Fadini *et al.*, 2020). Pasien COVID-19 dengan diabetes

melitus memerlukan perawatan lebih lama di rumah sakit, yaitu 14,4 hari (SD ± 9,6) sedangkan tanpa diabetes melitus memerlukan 9,8 hari (SD ± 17,1) dengan nilai  $p < 0.0001$  (Alkundi *et al.*, 2020). Selain diabetes melitus, tingkat keparahan COVID-19 dipengaruhi oleh beberapa faktor komorbid lain seperti hipertensi, jenis kelamin laki-laki, dan perokok aktif. Adanya peningkatan ekspresi reseptor ACE2 pada orang dengan komorbid tersebut diduga menjadi penyebab keparahan penyakit pada pasien COVID-19 (Bornstein *et al.*, 2020). Patogenesis SARS-CoV-2 secara pasti masih belum banyak diketahui, tetapi diduga SARS-CoV-2 menginfeksi tubuh dengan berikatan dengan reseptor-reseptor ACE2 (Angiotensin

Converting Enzyme-2) pada sel inang, kemudian melakukan duplikasi materi genetik dan mensintesis protein-protein yang dibutuhkan serta bereplikasi dengan cepat (Bornstein *et al.*, 2020; Samrah *et al.*, 2020).

### Pengaruh Diabetes Melitus terhadap kematian pasien COVID-19

Terdapat 7 artikel studi observasional pada tabel 2 yang melaporkan diabetes melitus sebagai penyebab mortalitas atau kematian pada pasien COVID-19. Total sampel pasien COVID-19 sebanyak 242.875 orang dimana dengan pasien dengan komorbid diabetes melitus sebanyak 38.106 orang (Albitar *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2020; Cho *et al.*, 2020; Hernandez *et al.*, 2020; Klang *et al.*, 2020; Nogueira *et al.*, 2020).

**Tabel 2. Pengaruh Diabetes Mellitus Terhadap Kematian Pasien COVID-19**

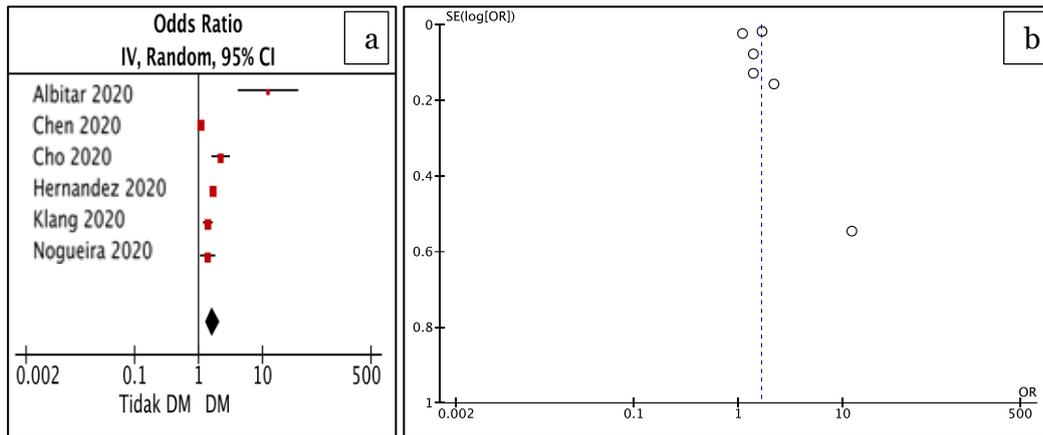
Penulis (Tahun)	Negara	Total sampel	Kematian COVID-19		
			aOR	SE	95% CI
Albitar <i>et al.</i> (2020)	Malaysia	Total: 828 DM: 62 dan Non-DM: 766	12,23	0,5449	4,20 – 36,27
Chen <i>et al.</i> (2020)	China	Total: 904 DM: 136 dan Non-DM: 768	1,09	0,0240	1,04- 1,15
Cho <i>et al.</i> (2020)	Korea	Total: 4542 DM: 632 dan Non-DM: 3910	02,22	0,1576	1.63-2.93
Hernandez <i>et al.</i> (2020)	Mexico	Total: 212.802 DM:34.685 dan Non-DM: 178.117	1,69	0.0184	1,63-1,74
Klang <i>et al.</i> (2020)	USA	Total: 3.406 DM:1.446 dan Non-DM:1960	1,4	0,0786	1,2-1,7
Nogueira <i>et al.</i> (2020)	Portugal	Total: 20.392 DM:1.145 dan Non-DM: 19.248	1,39	0,1287	1,08 – 1,79

Kriteria inklusi: artikel dengan studi observational dengan analisis multivariat, melaporkan aOR, populasi sampel diabetes melitus pada dewasa, serta outcome adalah kematian COVID-19. Heterogenitas:  $\tau^2 = 0.09$ ;  $\chi^2 = 233.42$ ,  $df=5$  ( $p < 0,00001$ );  $I^2 = 98\%$ . Test for overall effect;  $Z = 3.69$  ( $p = 0,0002$ )

Gambar 3a. *forest plot* pengaruh diabetes melitus terhadap kematian pasien

COVID-19 menunjukkan heterogenitas ( $I^2$ ) = 98 % sehingga *effect size* yang digunakan adalah model *Random Effect*. Hasil *forest plot* menunjukkan bahwa pasien dengan diabetes melitus dapat meningkatkan mortalitas pasien

COVID-19 sebesar 1,65 kali dibandingkan dengan pasien COVID-19 yang tidak menderita diabetes melitus. Secara statistik hasilnya signifikan ( $p < 0,00001$ ).



**Gambar 3.** Forest plot (a) dan Funnel plot (b) pengaruh diabetes terhadap kematian COVID-19. a. kotak merah (■) menggambarkan OR masing-masing studi, garis horizontal (—) menggambarkan CI 95%, dan gambar diamond hitam (◆) menggambarkan pooled OR. b. SE= Standard Error, o = mewakili artikel, garis putus-putus vertical (---) adalah center line untuk melihat kesimetrisan plot

Gambar 3b. menunjukkan terdapat bias publikasi yang ditandai dengan bentuk asimetris pada grafik. Plot kiri memiliki standard error: 0, 2 – 0, sedangkan pada plot kanan memiliki standard error antara 0.1 -0.6. Gambar *funnel plot* diatas memperlihatkan distribusi penelitian tidak simetris, dimana sebaran penelitian tidak seimbang di kiri dan kanan batas *center line*. Sehingga bisa disimpulkan bias publikasi mempengaruhi pengaruh diabetes melitus dengan kematian COVID-19.

Dari 7 artikel yang dimasukkan dalam

meta-analisis DM terhadap kematian COVID-19 (tabel 2) nilai aOR yang terendah yaitu 1,39 sampai tertinggi yaitu 12,23. Di China, pasien COVID-19 dengan komorbid diabetes melitus berisiko meningkatkan kematian sebesar 1,09 kali (95 % CI= 1,04-1,15;  $p=0,01$ ) (Chen *et al.*, 2020), di Meksiko sebesar 1,69 kali (95 % CI: 1,63-1,74) (Hernandez *et al.*, 2020), dan Portugal 1,39 kali (95% CI=1,08-1,9) (Nogueira *et al.*, 2020). Pada penelitian ini, pengaruh komorbid terhadap kematian COVID-19 ini dinilai dari satu faktor komorbid saja yaitu diabetes melitus, sedangkan pada penelitian lain

menyebutkan bahwa pasien COVID-19 dengan komorbid lebih dari satu dapat meningkatkan kematian sebesar 2,59 kali (95% CI= 1,61-4,17) dibandingkan hanya dengan satu faktor komorbid saja (Guan *et al.*, 2020).

Penelitian meta-analisis ini sejalan dengan penelitian meta-analisis yang dilakukan oleh Wu *et al.*, tahun 2020 yang menyebutkan diabetes melitus meningkatkan keparahan Covid-19 sebesar 2,58 kali dan diabetes melitus meningkatkan kematian pasien COVID-19 sebesar 2,95 kali dibandingkan tanpa komorbid DM (Wu *et al.*, 2020). Pengaruh DM terhadap keparahan dan kematian COVID-19 masih belum diketahui apakah berdiri sendiri atau berkaitan dengan komorbid yang lain. Pasien COVID-19 yang memiliki lebih dari satu komorbid bisa terjadi peningkatan derajat keparahan dan kematian karena semakin banyak organ yang mengalami kerusakan, hal ini didukung teori bahwa ACE2 yang merupakan reseptor SARS-Cov 2 dapat ditemukan pada banyak organ yaitu pankreas, jantung, ginjal, paru, usus, lambung, kandung kencing dan testis (Zhou *et al.*, 2020). Pasien COVID-19 dengan komorbid diabetes melitus dengan keadaan hiperglikemi tak terkontrol meningkatkan risiko kematian lebih tinggi dibandingkan diabetes

melitus dengan kadar gula yang terkontrol (Rajpal *et al.*, 2020). Penyebab lain keparahan akibat komorbid DM diduga karena pasien DM lebih rentan mengalami infeksi. Kerentanan pasien DM terhadap infeksi COVID-19 karena; 1. peningkatan ACE2 di dalam pasien diabetes melitus sehingga virus makin banyak menempel dan bereplikasi, 2. disfungsi imun pada diabetes melitus sehingga menyebabkan badai sitokin yang menyebabkan keparahan dan kematian COVID-19 (Muniyappa & Gubbi, 2020). Maka dari itu penting untuk mengontrol kadar gula pada pasien DM dengan COVID-19.

## **SIMPULAN DAN SARAN**

Studi yang membahas data keparahan dan kematian COVID-19 sangat penting karena pandemi COVID-19 masih menjadi ancaman dunia. Jumlah studi relevan yang diterbitkan dan dapat diakses masih terbatas, serta beberapa studi belum mengontrol faktor perancu, dilihat dari sedikitnya penelitian multivariat dengan melaporkan aOR (Adjusted Odds Ratio). Diabetes melitus merupakan salah satu faktor komorbid di antara banyak faktor komorbid yang meningkatkan risiko keparahan dan kematian pada pasien COVID-19. Untuk penelitian selanjutnya diharapkan dapat menambahkan artikel terkait untuk dianalisis,

seiring dengan pandemi COVID-19 yang masih berlangsung.

#### DAFTAR PUSTAKA

- ADA. 2014. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 37(SUPPL.1). Pp: S81–S90. <https://doi.org/10.2337/dc14-S081>
- Albitar, O., Ballouze, R., Ooi, J., and Sheikh Ghadzi, S. 2020. Risk factors for mortality among COVID-19 patients. *Diabetes Res Clin Pract*. [https://www.diabetesresearchclinicalpractice.com/article/S0168-8227\(20\)30545-3/abstract](https://www.diabetesresearchclinicalpractice.com/article/S0168-8227(20)30545-3/abstract)
- Alkundi, A., Mahmoud, I., Musa, A., Naveed, S., and Alshawwaf, M. 2020. Clinical characteristics and outcomes of COVID-19 hospitalized patients with diabetes in the United Kingdom: A retrospective single centre study. *Diabetes Res Clin Pract*. 165. 108263. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2020.108263>
- Bornstein, S. R., Rubino, F., Khunti, K., Mingrone, G., Hopkins, D., Birkenfeld, A. L., Boehm, B., Amiel, S., Holt, R. I., Skyler, J. S., DeVries, J. H., Renard, E., Eckel, R. H., Zimmet, P., Alberti, K. G., Vidal, J., Geloneze, B., Chan, J. C., Ji, L., and Ludwig, B. 2020. Practical recommendations for the management of diabetes in patients with COVID-19. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 8(6). Pp: 546–550. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30152-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30152-2)
- Bravi, F., Flacco, M. E., Carradori, T., Volta, C. A., Cosenza, G., De Togni, A., Martellucci, C. A., Parruti, G., Mantovani, L., and Manzoli, L. 2020. Predictors of severe or lethal COVID-19, including angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor blockers, in a sample of infected Italian citizens. *PLoS one*. 15(6 June)Pp: 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235248>
- Cariou, B., Hadjadja, S., Wargny, M., Pichelin, M., Al-Salameh, A., Allix, I., Amadou, C., Arnault, G., Baudoux, F., Bauduceau, B., Borot, S., Bourgeon-Ghittori, M., Bourron, O., Boutoille, D., Cazenave-Roblot, F., Chaumeil, C., Cosson, E., Coudol, S., Darmon, P., ... Gourdy, P. 2020. Phenotypic characteristics and prognosis of inpatients with COVID-19 and diabetes: the CORONADO study. *Diabetologia*. 63(8). Pp: 1500–15. <https://doi.org/10.1007/s00125-020-05180-x>
- Chen, Y., Yang, D., Cheng, B., Chen, J., Peng, A., Yang, C., Liu, C., Xiong, M., Deng, A., Zhang, Y., Zheng, L., and Huang, K. 2020. Clinical Characteristics and Outcomes of Patients with Diabetes and COVID-19 in Association with Glucose-Lowering Medication. *Diabetes Care*. 43(7). Pp: 1399–407. <https://doi.org/10.2337/dc20-0660>
- Cho, S. I., Yoon, S., and Lee, H.-J. 2020. *Impact of comorbidity burden on mortality in patients with COVID-19: a retrospective analysis of the Korean health insurance database*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-54298/v1>
- Fadini, G. P., Morieri, M. L., Boscari, F., Fioretto, P., Maran, A., Busetto, L., Bonora, B. M., Selmin, E., Arcidiacono, G., Pinelli, S., Farnia, F., Falaguasta, D., Russo, L., Voltan, G., Mazzocut, S., Costantini, G., Ghirardini, F., Tresso, S., Cattelan, A. M., ... Avogaro, A. 2020. Journal Pre-proofs Newly-diagnosed diabetes and admission hyperglycemia predict COVID-19 severity by aggravating respiratory deterioration. *Diabetes Res Clin Pract*. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2020.108374>
- Feng, Y., Ling, Y., Bai, T., Xie, Y., Huang, J., Li, J., Xiong, W., Yang, D., Chen, R., Lu, F., Lu, Y., Liu, X., Chen, Y., Li, X., Li, Y., Summah, H. D., Lin, H., Yan, J., Zhou, M., ... Qu, J. 2020. COVID-19 with different severities: A multicenter study of clinical features. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 201(11). Pp: 1380–88. <https://doi.org/10.1164/rccm.202002->

0445OC

- Gottlieb, M., Sansom, S., Frankenberger, C., Ward, E., and Hota, B. 2020. *Clinical Course and Factors Associated with Hospitalization and Critical Illness Among COVID-19 Patients in Chicago, Illinois*.  
<https://doi.org/10.1111/ACEM.14104>
- Guan, W., Liang, W., Zhao, Y., Liang, H., Chen, Z., Li, Y., Liu, X., Chen, R., Tang, C., Wang, T., Ou, C., Li, L., Chen, P., Sang, L., Wang, W., Li, J., Li, C., Ou, L., Cheng, B., ... He, J. 2020. Comorbidity and its impact on 1,590 patients with COVID-19 in China: A Nationwide Analysis. *MedRxiv*. 2020.02.25.20027664.  
<https://doi.org/10.1101/2020.02.25.20027664>
- Hernandez, D. R., González-Block, M. Á., Romo-Dueñas, D. K., Lima-Morales, R., Hernández-Vicente, I. A., Lumbreras-Guzmán, M., and Méndez-Hernández, P. 2020. Increased Risk of Hospitalization and Death in Patients with COVID-19 and Pre-existing Noncommunicable Diseases and Modifiable Risk Factors in Mexico. *Arch. Med. Res.* 51(7). Pp: 683–9.  
<https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.07.003>
- Hu, B., Guo, H., Zhou, P., and Shi, Z.-L. 2020. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat. Rev. Microbiol.*  
<https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
- Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., ... Cao, B. 2020. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*. 395(10223). Pp: 497–506.  
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
- IDF. 2019. *Worldwide toll of diabetes*.  
<https://diabetesatlas.org/en/sections/worldwide-toll-of-diabetes.html>
- Killerby, M., Link-Gelles, R., Haight, S. C., Schrodt, C. A., England, L., Gomes, D. J., Shamout, M., Pettrone, K., O’Laughlin, K., Kimball, A., Blau, E. F., Burnett, E., Ladva, C. N., Szablewski, C. M., Tobin-D’Angelo, M., Oosmanally, N., Drenzek, C., Murphy, D. J., Blum, J. M., ... Wong, K. K. 2020. *Characteristics Associated with Hospitalization Among Patients with COVID-19 — Metropolitan Atlanta, Georgia, March–April 2020* *MMWR*. 69(25). Pp: 790–4.  
<https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6925e1>
- Klang, E., Kassim, G., Soffer, S., Freeman, R., and Levin, M. A. 2020. Morbid Obesity as an Independent Risk Factor for COVID-19 Mortality in Hospitalized Patients Younger than 50. *Wiley Online Library*.  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/oby.22913>
- Lee, Y. H. 2019. What’s hot? Strengths and Limitations of Meta-Analysis. *Korean J Fam Med*. Vol. 94, N.  
<https://doi.org/10.3904/kjm.2019.94.5.391>
- Muniyappa, R., and Gubbi, S. 2020. COVID-19 pandemic, coronaviruses, and diabetes mellitus. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 318(5). E736–E741.  
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00124.2020>
- Nogueira, P. J., de Araújo Nobre, M., Costa, A., Ribeiro, R. M., Furtado, C., Bacelar Nicolau, L., Camarinha, C., Luís, M., Abrantes, R., and Vaz Carneiro, A. 2020. The Role of Health Preconditions on COVID-19 Deaths in Portugal: Evidence from Surveillance Data of the First 20293 Infection Cases. *J. Clin. Med.* 9(8).  
<https://doi.org/10.3390/jcm9082368>
- Pinedo-Torres, I., Flores-Fernández, M., Yovera-Aldana, M., Gutierrez-Ortiz, C., Zegarra-Lizana, P., Intimayta-Escalante, C., Moran-Mariños, C., Alva-Diaz, C., and Pacheco-Barrios, K. 2020. Prevalence of Diabetes Mellitus and Its Associated Unfavorable Outcomes in Patients With Acute Respiratory Syndromes Due to Coronaviruses Infection: A Systematic

- Review and Meta-Analysis. *Clin Med Insights Endocrinol Diabetes*. 13.117955142096249. <https://doi.org/10.1177/1179551420962495>
- Rajpal, A., Rahimi, L., and Ismail-Beigi, F. 2020. Factors Leading to High Morbidity and Mortality of COVID -19 in Patients with Type 2 Diabetes . *J Diabetes*. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.13085>
- Ryan, C., Minc, A., Caceres, J., Balsalobre, A., Dixit, A., Ng, B., Schmitzberger, F., Syed-Abdul, S., and Fung, C. 2020. Predicting severe outcomes in Covid-19 related illness using only patient demographics, comorbidities and symptoms. *Am. J. Emerg. Med.* <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2020.09.017>
- Samrah, S., and Al-Mistarehi, AHW, A. I. 2020. COVID-19 outbreak in Jordan: Epidemiological features, clinical characteristics, and laboratory findings. *Elsevier*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2049080120302016>
- WHO. 2016. *Executive Summary Global Report On Diabetes*. [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204874/WHO\\_NMH\\_NVI\\_16.3\\_eng.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204874/WHO_NMH_NVI_16.3_eng.pdf?sequence=1)
- WHO. 2020a. Coronavirus Disease Situation Report World Health Organization. *World Health Organization*. 19(May). Pp: 1–17.
- WHO. 2020b. *WHO COVID-19 Case definition*. <https://www.who.int/publications/i/item/>
- WHO-2019-nCoV-Surveillance\_Case\_Definition-2020.2
- Wu, J., Zhang, J., Sun, X., Wang, L., Xu, Y., Zhang, Y., Liu, X., and Dong, C. 2020. Influence of diabetes mellitus on the severity and fatality of SARS-CoV-2 (COVID-19) infection. *Diabetes Obes Metab*. <https://doi.org/10.1111/dom.14105>
- Ye, C., Zhang, S., Zhang, X., Cai, H., Gu, J., Lian, J., Lu, Y., Jia, H., Hu, J., Jin, C., Yu, G., Zhang, Y., Sheng, J., and Yang, Y. 2020. Impact of comorbidities on patients with COVID-19: A large retrospective study in Zhejiang. China. *J Med Virol*. June. <https://doi.org/10.1002/jmv.26183>
- Zhou, F., Yu, T., Du, R., Fan, G., Liu, Y., Liu, Z., Xiang, J., Wang, Y., Song, B., Gu, X., Guan, L., Wei, Y., Li, H., Wu, X., Xu, J., Tu, S., Zhang, Y., Chen, H., and Cao, B. 2020. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The Lancet*. 395(10229). Pp: 1054–62. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)
- Zhou, Y., Yang, Q., Chi, J., Dong, B., Lv, W., and L Shen. 2020. Comorbidities and the risk of severe or fatal outcomes associated with coronavirus disease 2019: A systematic review and meta-analysis. *Elsevier*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971220305725>

## PENYAKIT FAHR'S DENGAN KEJANG PADA PASIEN KARSINOMA TIROID: SEBUAH LAPORAN KASUS

### FAHR'S DISEASE WITH SEIZURE IN THYROID CARCINOMA PATIENT: A CASE REPORT

Iwan Setiawan, Sulistiyani Sulistyani

Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta

Korespondensi: dr. Iwan Setiawan, Sp. S. Email: ee.wansps66@gmail.com

#### ABSTRAK

Penyakit Fahr's adalah penyakit dengan gangguan neuropsikiatri yang ditandai dengan kalsifikasi di ganglia basalis bilateral dari hasil pemeriksaan pencitraan otak dan biasanya berhubungan dengan gangguan metabolisme fosfor dan kalsium. Artikel ini menyajikan kasus penyakit Fahr's pada seorang wanita usia 56 tahun dengan karsinoma tiroid dan kejang. Selanjutnya, CT scan kepala menunjukkan adanya kalsifikasi yang simetris bilateral pada ganglia basalis, dan otak kecil. Manifestasi klinis penyakit Fahr's bervariasi tergantung usia, letak bagian otak yang mengalami kalsifikasi, dalam hal ini gejala yang dominan adalah jenis kejang berulang berupa bangkitan general tonic clonic. Kejang yang terjadi dalam hal ini bisa jadi akibat perubahan hormon tiroid atau akibat kalsifikasi di otak. Belum ada pengobatan khusus pada penyakit ini. Gejala kejang yang terjadi mendapatkan terapi dengan sodium valproate dan terapi untuk gangguan perubahan hormon tiroidnya.

**Kata kunci:** Penyakit Fahr's, Karsinoma Tiroid, Kejang

#### ABSTRAK

Fahr's disease is a disease with neuropsychiatric disorder, characterized by bilateral basal ganglia calcification and usually associated with a phosphorus and calcium metabolism disorder. This paper presents a case of Fahr's disease in a 56-year-old woman with carcinoma thyroid and seizures. Furthermore, CT showed bilateral symmetric basal ganglia and cerebellum calcifications. Clinical manifestations of Fahr's disease vary depending on age, location of the part of the brain that is calcified, in this case the dominant symptom is recurrent seizures type of the general tonic clonic. Seizures that occur in this case can be resulted of thyroid hormone changes or brain calcification. There is no specific treatment for this disease. The seizures that occur got therapy with sodium valproate and therapy for disorders of thyroid hormone changes.

**Key words:** Fahr's Disease, Thyroid Carcinoma, WSeizure

**How To Cite:** Setiawan, I., & Sulistyani, S. (2021). PENYAKIT FAHR'S DENGAN KEJANG PADA PASIEN KARSINOMA TIROID: SEBUAH LAPORAN KASUS. *Biomedika*, 13(1), 95-100. doi:<https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.11796>

**DOI:** <https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.11796>

## PENDAHULUAN

Fahr's Disease pertama kali dijelaskan oleh seorang neurolog Jerman yang bernama Karl Theodor Fahr's pada tahun 1930, dengan kasus seorang pasien 81 tahun dengan gejala demensia, demam, imobilitas, dan hasil pemeriksaan otopsi otak menunjukkan bukti kalsifikasi pada striatum (Viteva *and* Djurkova, 2015; Mufaddel *and* Al-Hassani, 2014 ). Kalsifikasi serebral yang luas dapat terjadi secara idiopatik sebagai sindrom Fahr's, atau mungkin timbul akibat dari gangguan metabolisme sekunder, seperti hipoparatiroidisme. Sindrom Fahr's adalah sindrom neuropsikiatri yang ditandai dengan kalsifikasi intraserebral simetris dan bilateral yang terletak di ganglia basal dan biasanya dikaitkan dengan gangguan metabolisme fosfor dan kalsium. Gambaran klinis dapat berupa berbagai gangguan gerakan, demensia, kejang epilepsi, berbagai derajat gangguan neuropsikologis dan gangguan perilaku (Ongun *et al.* 2016) . Ini adalah bentuk kalsifikasi idiopatik pada ganglia basalis dan serebelum di mana koreoatetosis dan rigiditas merupakan gambaran klinis yang didapatkan, juga didapatkan klinis berupa sindrom parkinson atau athetosis bilateral (Ropper *et al.* 2014).

Manifestasi klinis menggabungkan berbagai gejala, bahwa kalsifikasi bilateral dikaitkan dengan gangguan neuropsikiatri dan ekstrapiramidal bersama-sama dengan metabolisme kalsium dan fosfor normal. Penelitian lain melaporkan adanya kejang, kekakuan, dan gangguan demensia berkorelasi dengan kalsifikasi ganglia basal. Koreoatetosis dan kekakuan merupakan gambaran klinis yang sering dijumpai. Keadaan klinis lain dapat juga berupa sindrom parkinsonian atau athetosis bilateral (Ropper *et al.* 2014, Farshchian *et al.* 2015)

Fahr's diseases adalah penyakit nonatherosclerotic idiopatik ditandai dengan kalsifikasi simetris basal ganglia, thalami, dan inti dentate serebular. Fahr's diseases ini dapat diwariskan pada orang yang memiliki autosom dominan dan resesif. Kasus sporadis juga ada telah dilaporkan. Penyakit ini memanifestasikan dirinya dalam bentuk gangguan fungsi kognitif serebral awal dan demensia. Ini diketahui terkait dengan kasus *pseudohyperparathyroidism* (Al-Tubaikh *and* Reiser, 2009).

Kalsifikasi ganglia basal memiliki banyak penyebab. Ini adalah temuan insidental hingga 1% dari semua CT scan otak. Kalsifikasi ganglia basal juga dapat dilihat pada gangguan

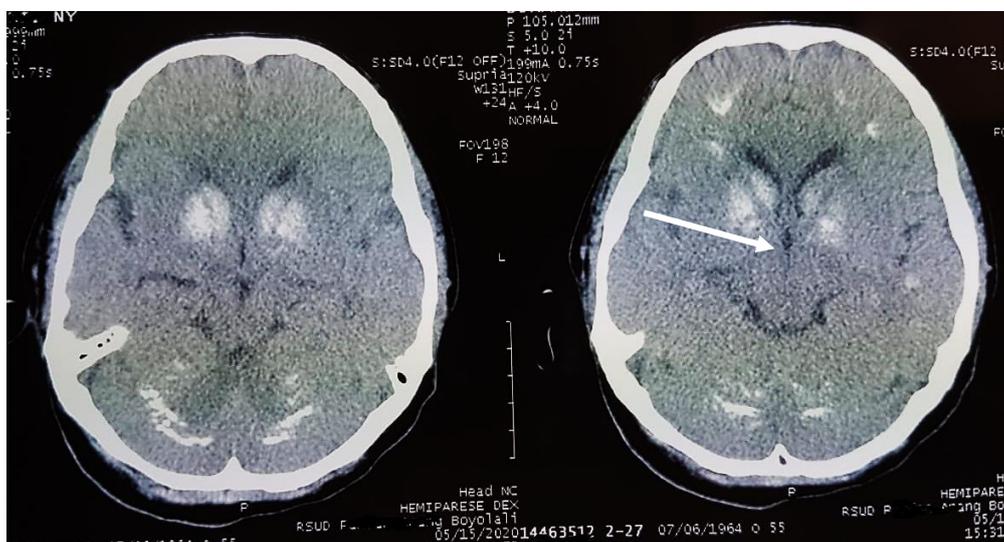
infeksi, metabolisme, dan genetik yang mempengaruhi wilayah otak ini. Gangguan paling umum dijumpai adalah disfungsi kognitif, tanda-tanda gangguan serebelar, disartria, tanda-tanda piramidal, gangguan psikiatri, gangguan gaya berjalan, dan gangguan sensorik (Daroff *et al.* 2016).

## LAPORAN KASUS

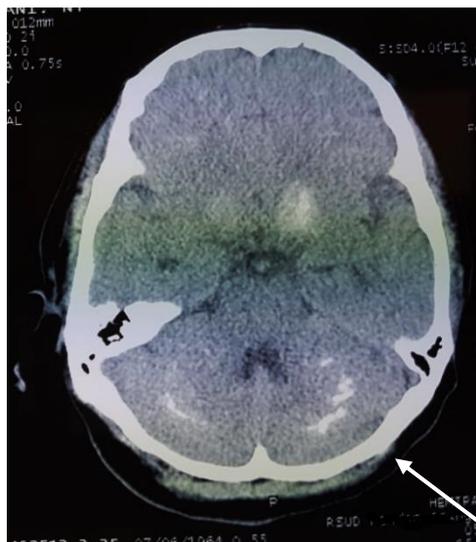
Seorang wanita umur 56 tahun, dibawa ke IGD oleh keluarganya dengan *post* kejang di rumah, kejang terjadi beberapa kali, tidak sadar saat kejang, lama kejang rata-rata 5 menit, tipe kejang general tonik klonik. Tidak ada keluhan nyeri kepala, mual muntah. Riwayat kejang 4 kali sejak 8 bulan terakhir. Penderita didiagnosis karsinoma tiroid stadium 2B sejak 10 tahun yang lalu dari hasil pemeriksaan patologi anatomi. Tidak terdapat riwayat keluhan serupa dalam keluarga. Pemeriksaan tanda vital dalam

batas normal, demikian juga pemeriksaan neurologis dalam batas normal. Pemeriksaan darah rutin dalam batas normal, sedangkan kadar kalsium 4,2 mg/dl, *thyroid stimulating hormon* (TSH) 0,05  $\mu$ IU/mL, dan *free thiroxyne* (FT4) 2.06 ng/dL. Dari hasil pemeriksaan CT Scan kepala didapatkan gambaran kalsifikasi di ganglia basalis bilateral, subaraknoid hemisfer bilateral (gambar 1), juga terdapat kalsifikasi di serebelum (gambar 2).

Kejang terkontrol lebih kurang satu bulan dengan pemberian sodium valproat. Satu bulan setelah perawatan, pasien masuk rumah sakit dengan keluhan ileus, dan dilakukan laparatomi serta dilakukan pemeriksaan patologi anatomi dengan hasil karcinoma usus besar. Pasien kejang 2 kali dengan tipe kejang general tonik klonik setelah operasi laparatomi.



**Gambar .1.** CT Scan otak menunjukkan adanya kalsifikasi pada basal ganglia bilateral.



**Gambar 2.** CT Scan otak menunjukkan kalsifikasi di otak kecil (serebelum).

## **DISKUSI**

Pada kasus ini, pasien sudah terdiagnosis karsinoma tiroid stadium 3b berdasarkan hasil pemeriksaan patologi anatomi, dimana pada beberapa bulan kemudian timbul kejang berulang dengan tipe general tonik klonik. Pada awalnya dicurigai terjadi metastase ke otak, tetapi dari hasil pemeriksaan CT Scan kepala didapatkan kalsifikasi di ganglia basalis bilateral. Pasien ini, kadar TSH masih rendah sedangkan FT4 cukup tinggi, adanya perubahan hormone thyroid pada kasus karsinoma tiroid dapat memicu bangkitan epilepsi ( Tamijani *et al.* 2015). Pada kasus ini kadar kalsium masih dalam batas normal, berbeda dengan kasus Hozumi *et al* (2010) yang didapatkan kenaikan kadar kalsium yang tinggi, termasuk juga kuprum, ferum, dan magnesium.

Pada pasien ini menunjukkan gejala kejang general tonik klonik, berbagai tanda dan gejala neurologis terkait dengan sindrom Fahr's. Pada orang dewasa dapat terjadi kehilangan kesadaran dan kejang telah dilaporkan dengan hipokalsemia hipotiroid (Saleem *et al.* 2013) . Mungkin secara klinis dapat berupa berbagai gangguan gerakan, demensia, kejang epilepsi, berbagai derajat gangguan neuropsikologis dan gangguan perilaku (Lungu *et al.* 2017 ; Ongun *et al.* 2016). Gejala dapat meliputi penurunan fungsi motorik, demensia, kejang, sakit kepala, disartria, kelenturan, gangguan mata, dan athetosis (Shahidi *and* Safdarian, 2017).

Bentuk gangguan penyakit ini ditandai oleh pengendapan kalsium abnormal (kalsifikasi) idiopatik di area otak yang mengontrol gerakan, termasuk ganglia basal, thalamus, nukleus

dentate, korteks serebral, otak kecil, substansia alba subkortikal, dan hipokampus, dimana koreoatetosis dan kekakuan merupakan gambaran klinis yang sering dijumpai. Keadaan klinis lain dapat juga berupa sindrom parkinsonian atau atetosis bilateral (Ropper *et al.* 2014, Calabrò *et al.* 2014, Farshchian *et al.* 2015).

Diagnosis didasarkan pada gambaran klinis klinis, disfungsi neurologis progresif, tidak adanya kelainan biokimiawi dan pencitraan radiologis karakteristik terdapat kalsifikasi bilateral ganglia basal, dan riwayat keluarga yang signifikan (Farshchian *et al.* 2015, Rangaswamy *et al.* 2016)

Etiologi yang tepat masih belum diketahui secara pasti, pada kasus ini kemungkinan berhubungan dengan gangguan endokrin (seperti: hipoparatiroidisme dan hiperparatiroidisme), dan kondisi neurodegeneratif (seperti: degenerasi saraf, penyakit akumulasi besi, lipomembran polikistik). Transportasi besi yang rusak dan produksi radikal bebas memulai proses kalsifikasi. Penyakit ini pada orang dewasa dimulai dengan deposit kalsium secara umum pada didekade ketiga dan komplikasi neurologis

menjadi nyata setelah dua dekade (Farshchian *et al.* 2015)

Pada kasus ini pasien menunjukkan gejala kejang berulang, yang mendapatkan terapi dengan valproat, padahal valproat meningkatkan hormone tiroksin (TSH) (Kusumastuti dkk., 2019). Penyakit Fahr's adalah penyakit langka tanpa pengobatan absolut dan tujuannya adalah terapi tambahan. Karena itu, diagnosa lebih cepat direkomendasikan dengan teknik pencitraan. L-dopa (atau carbidopa) dan obat-obatan antipsikotik diresepkan pada parkinson dan gejala psikotik. Selanjutnya, kejang dan gangguan gerakan di Fahr's sindrom yang terkait dengan gangguan paratiroid dapat diatasi dengan koreksi fosfat dan kalsium level untuk mis. pengobatan dengan *alpha hydroxy* vitamin D3 dan kortikosteroid untuk memperbaiki defisit neurologis (Farshchian *et al.* 2015).

## **KESIMPULAN**

Penyakit Fahr's adalah penyakit yang jarang dijumpai, gejala yang timbul sangat bervariasi tergantung bagian otak yang terkena. Diagnosis penyakit ini karakteristik ditegakkan berdasarkan temuan hasil CT Scan yang didapatkan gambaran kalsifikasi di ganglia basalis bilateral, dapat juga mengenai otak kecil (serebelum). Pengobatan ditujukan untuk

mengatasi gejala yang timbul, tidak ada pengobatan yang spesifik, pada kasus ini pengobatan untuk mengatasi kejang yang timbul dan perubahan hormon tiroid akibat karsinoma tiroid.

## DAFTAR PUSTAKA

- Al-Tubaikh, J.A. and Reiser, M.F. 2009. *Congenital disease and syndromes*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Pp: 28-9.
- Calabrò, R.S., Spadaro, L., Marra, A., and Bramanti, P. 2014. Fahr's disease presenting with dementia at onset: a case report and literature review. *Behav Neurol*. 750975. Pp: 1-3. doi: 10.1155/2014/750975.
- Daroff, R.B., Jancovic, J., Mazziota, J.C., and Pomeroy, S.C. 2016. *Bradley's Neurology in Clinical Practice. Vol.1, 7<sup>th</sup> edition*. Elsevier. p: 1442.
- Farshchian, N., Rostamzede, A., Gharib, A., Farzizadeh, Z., and Farzizadeh, M. 2015. Fahr's Syndrome with Seizure Presentation. *J Chem.Pharm.Res*. 7(11). Pp: 598-603.
- Hozumi, I., Kohmura, A., Kimura, A., Hasegawa, A., Honda, A., Hayashi, Y., Hashimoto, K., Yamada, M., Sakurai, T., Tanaka, Y., Satoh, M., and Inuzuka, T. 2010. High levels of copper, zink, iron, and magnesium, but not calcium in the cerebrospinal fluid of patients with Fahr's disease. *Case Rep Neurol*. 2(2). Pp: 46-51
- Kusumastuti, K., Gunadharma, S., dan Kustiowati, E. 2019. *Pedoman Tata Laksana Epilepsi* edisi 6. Kelompok studi epilepsy PERDOSSI. Surabaya. Airlangga University Press.
- Lungu, M., Romila, A., Nechita, A., Tutunaru, D., and Mariam, C.B. 2019. Neurological Manifestation in thyroid tumors. *Acta Med. Mediterr*.33. p: 385.
- Mufaddel, A.A., and Al-Hassani, G.A. 2014. Familial idiopathic basal ganglia calcification (Fahr's disease). *Neuroscience* 2014; vol.19(3) : 171-177.
- Ongun, N., Degirmenci, E., and Erdogan, C. 2016. Fahr's Syndrome Presenting with Epileptic Seizure : Two Case Report. *North Clin Istanbul*. 3(1). Pp: 71-4.
- Rangaswamy, Ranjith, V., Vikas, L., and Santosh, R. 2016. Fahr's disease with seizure presentation. *J Assoc Physicians India*. Vol 64. Pp: 85-6.
- Ropper, A.H., Samuels, M.A., and Klein, J.P. 2014. *Adam Victor's Principles of Neurology. Tenth edition*. McGraw Hill. p: 987
- Saleem, S., Aslam, H.M., Anwar, M., Anwar, S., Saleem, M., Saleem, A., and Rehmani, M.A.K. 2013. Fahr's syndrome: Literature review of current evidence. *Orphanet J. Rare Dis*. 8. P: 156.
- Shahidi, G.A., and Safdarian, M. 2017. Fahr's disease: Idiopathic basal ganglia calcification, *Iran J Neurol*. 16(1). Pp: 53-4.
- Tamijani, S.M.S., Karimi, B., Amini, E., Golpich, M., Dargahi, L., Ali, R.A., Ibrahim, N.M., Mohamed, Z., Ghasemi, R., and Ahmadiani, A. 2015. Thyroid hormones: Possible role in epilepsy pathology. *Seizure*. 31. Pp: 155-64
- Viteva, E., and Djurkova, A. 2015. Fahr's disease with epilepsy, deafness, schizophreniform psychosis and autoimmune polymyositis : a case report. *An Int. J. Public Health*. Rare Disease and Orphan Drugs. 2(2). Pp: 34-7.