



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SERTIFIKAT PATEN

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan hak atas Paten kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten

: UNIVERSITAS AIRLANGGA

Jl. Airlangga No. 4-6, Mulyorejo,
Jawa Timur 60115
INDONESIA

Untuk Invensi dengan Judul

: CAMPURAN EKSTRAK HERBAL MENGANDUNG PEGAGAN (*Centella asiatica*), SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) DAN MENGGUDU (*Morinda citrifolia*) SEBAGAI ANTI TUBERCULOSIS

Inventor

: Dr. Idha Kusumawati, S.Si., Apt., M.Si.
Dr. Riesta Primaharinastiti, S.Si., Apt., M.Si.
Helmy Yusuf, S.Si., Apt., M.Sc., Ph.D

Tanggal Penerimaan

: 27 November 2015

Nomor Paten

: IDP000050087

Tanggal Pemberian

: 12 Maret 2018

Perlindungan Paten untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 20 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 22 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari invensi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP. 196611181994031001

Deskripsi

5 **CAMPURAN EKSTRAK HERBAL MENGANDUNG PEGAGAN (*Centella asiatica*), SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) DAN MENGGKUDU (*Morinda citrifolia*) SEBAGAI ANTI TUBERCULOSIS**

Bidang Teknik Invensi

10 Invensi ini berkaitan dengan campuran ekstrak herbal yang mengandung pegagan (*Centella asiatica*), sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan mengkudu (*Morinda citrifolia*) untuk antituberculosis. Lebih khusus, campuran ekstrak herbal ini yang dibuat melalui sistem penghantaran dalam bentuk fitosom.

Latar Belakang Invensi

15 Tuberculosis (TB) masih menjadi masalah kesehatan yang mendunia. Penyakit yang disebabkan infeksi kuman *Mycobacterium tuberculosis* ini menjadi “pembunuh” nomor satu untuk kategori penyakit infeksi. Di Indonesia TBC merupakan penyebab kematian utama dan angka kesakitan dengan urutan teratas setelah ISPA. Indonesia menduduki urutan ketiga setelah India dan China dalam jumlah penderita TBC di dunia. Jumlah penderita TBC paru dari tahun ke tahun di Indonesia terus meningkat. Saat ini
20 setiap menit muncul satu penderita baru TBC paru, dan setiap dua menit muncul satu penderita baru TBC paru yang menular. Bahkan setiap empat menit sekali satu orang meninggal akibat TBC di Indonesia.

Kendati penyakit ini disebabkan oleh bakteri, namun sistem kekebalan tubuh penderita mempunyai pengaruh yang cukup besar. Untuk itu, salah satu bentuk
25 penyembuhannya adalah dengan meningkatkan daya tahan tubuh selain mengobati penyebab penyakit itu. Obat anti TB (OAT) diberikan dalam bentuk kombinasi beberapa jenis obat, dalam jumlah dan dosis yang tepat selama 6-9 bulan supaya kuman dapat dibunuh.

30 Peran obat herbal atau obat fitofarmaka yang dikembangkan dari tanaman obat Indonesia diharapkan dapat menjadi adjuvan dalam terapi penyakit TB. Adjuvan dalam terapi ini adalah untuk meningkatkan atau mengoptimalkan hasil terapi diantaranya adalah untuk meningkatkan fungsi dan aktivitas sistem imun sehingga dapat membantu mengeradikasi penyebab terjadinya infeksi. Penggunaan obat herbal yang merupakan adjuvan ini dapat dipadukan bersama-sama dengan OAT.

Centella asiatica (pegagan), *Morinda citrifolia* (mengkudu) dan *Andrographis paniculata* (sambiloto) merupakan tanaman-tanaman yang menunjukkan potensi untuk dikembangkan menjadi obat fitofarmaka untuk terapi TB, baik secara tunggal maupun kombinasi.

5 Pada penelitian sebelumnya telah diketahui kadar kandungan masing-masing senyawa markernya, asiaticosida dalam ekstrak pegagan, andrographolid dalam ekstrak sambiloto dan skopoletin dalam ekstrak mengkudu. Kadar senyawa marker ini digunakan untuk menentukan berapa ekstrak yang digunakan dalam komposisi obat herbal ini.

10 Kandungan senyawa dalam ekstrak merupakan senyawa yang berstruktur molekul besar sehingga akan sulit diabsorpsi melalui membran usus. Dengan mengubahnya menjadi bentuk kompleks seperti bentuk fitosom yaitu bentuk kompleks dengan menggunakan fosfolipid, maka akan dapat meningkatkan kemampuan absorpsinya.

15 Invensi yang diajukan ini telah menemukan bahwa baik dalam bentuk aslinya maupun dalam bentuk fitosomnya, ekstrak pegagan, ekstrak sambiloto dan ekstrak mengkudu baik tunggal maupun campuran ketiganya mempunyai aktivitas antituberculosis.

20 Di samping itu, keahlian serupa lainnya yang telah ada saat ini belum ada yang menggunakan dan mengembangkan ekstrak pegagan, ekstrak sambiloto dan ekstrak mengkudu baik tunggal maupun campuran ketiganya mempunyai aktivitas antituberculosis baik dalam bentuk ekstrak maupun bentuk fitosomnya, dijadikan obat herbal untuk antituberculosis. Bahan-bahan tersebut, diharapkan merupakan invensi baru apalagi dengan menggunakan jumlah tertentu dari masing-masing senyawa marker
25 dalam bahan-bahan tersebut.

Invensi yang diajukan ini adalah tentang komposisi obat herbal yang terdiri dari dalam, ekstrak pegagan, ekstrak sambiloto dan ekstrak mengkudu baik tunggal maupun campuran ketiganya baik dalam bentuk aslinya maupun bentuk fitosomnya untuk dikembangkan menjadi obat herbal antituberculosis, yang telah distandardisasi
30 bahan bakunya untuk menjamin keseragaman bahan aktif guna memenuhi aspek kualitas, keamanan dan efikasi.

Dari hasil penelusuran paten diketahui bahwa ekstrak herba sambiloto dibuat kompleks dengan menggunakan fosfolipid dan digunakan untuk terapi alzheimer (paten nomer WO2011086007 A1 dan US patent no US 2012/0301560 A1). Pembentukan

kompleks juga dilakukan dengan penambahan piperin untuk meningkatkan bioavailabilitas pegagan (WO2003049753 A1 dan US patent no 7514105 B2). Untuk pemakaian formula campuran ekstrak herba pegagan, ekstrak herba sambiloto dan ekstrak daun mengkudu tidak ditemukan.

5 Keunggulan invensi ini adalah pencampuran ketiga ekstrak ini bertujuan untuk menggabungkan aktivitas masing-masing ekstrak tersebut. Ekstrak herba pegagan telah diketahui meningkatkan sistem kekebalan tubuh pada penderita Tuberculosis, ekstrak herba sambiloto diketahui dapat digunakan sebagai terapi infeksi saluran pernafasan atas dan diketahui sebagai antimycobacterium tuberculosis. Ekstrak daun mengkudu juga
10 diketahui sebagai antimycobacterium tuberculosis. Dengan menggabungkan ketiga ekstrak tersebut diharapkan dapat menjadi obat herbal yang lebih poten. Pembentukan kompleks dengan fosfolipid dapat meningkatkan bioavailailitas ekstrak karena struktur molekul besar yang terdapat didalam ekstrak menjadi lebih mudah diabsorpsi.

15 **Ringkasan Invensi**

Invensi yang diajukan ini menyediakan tentang formula obat herbal antituberculosis yang efektif dan potent. Formula ini diperoleh dengan melalui beberapa tahapan.

Tujuan pertama invensi ini adalah suatu proses pembuatan campuran herbal
20 yang mengandung Pegagan (*Centella asiatica*), Sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan Mengkudu (*Morinda citrifolia*) yang terdiri dari

- Penyiapan simplisia;
- Pengecilan ukuran partikel simplisia;
- Ekstraksi 0,25 kg simplisia menggunakan 2,5 liter etanol 70% dilakukan dalam 4
25 tahap ekstraksi menggunakan metode maserasi menggunakan mikrowave 6 kali 10 detik dengan power 30%;
- Pemekatan ekstrak dilakukan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak sebanyak 100 ml;

Proses menurut tujuan invensi pertama dikarakteristikan penetapan kadar
30 asiaticosida dengan metode Kromatografi Lapis Tipis-densitometer, dengan fase gerak menggunakan hexane : etil acetate, 2 : 1 (v/v).

Proses menurut tujuan invensi pertama dikarakteristikan penetapan kadar andrografolid dengan metode Kromatografi Lapis Tipis-densitometer, dengan fase gerak menggunakan hexane : metanol, 9 : 1 (v/v).

Proses menurut tujuan invensi pertama dikarakteristikkan penetapan kadar skopoletin dengan metode Kromatografi Lapis Tipis-densitometer, dengan fase gerak menggunakan etil asetat : metanol, 1 : 1 (v/v).

5 Proses menurut tujuan invensi pertama dikarakteristikkan menghasilkan rendemen ekstrak sebesar 16,8%.

Proses menurut tujuan invensi pertama dikarakteristikkan ekstrak pegagan mengandung 6,1% asiaticosida,

Proses menurut tujuan invensi pertama dikarakteristikkan ekstrak sambiloto mengandung 32,1% andrografolida

10 Proses menurut tujuan invensi pertama dikarakteristikkan ekstrak mengkudu mengandung 2,7% skopoletin

Tujuan invensi kedua adalah suatu campuran ekstrak herbal yang mengandung Pegagan (*Centella asiatica*), Sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan Mengkudu (*Morinda citrifolia*) dengan perbandingan 1:1:1 sebagai antituberculosis.

15 Campuran ekstrak herbal menurut tujuan invensi kedua dikarakteristikkan penghantaran obat melalui bentuk fitosom membentuk kompleks fosfatidilkolin dengan perbandingan 3:1 (b/b).

Uraian Singkat Gambar

20 **Gambar 1.** Foto fitosom ekstrak etanol 70% herba pegagan dengan menggunakan SEM

Gambar 2. Foto fitosom ekstrak etanol 70% herba sambiloto dengan menggunakan SEM

25 **Gambar 3.** Foto fitosom ekstrak etanol 70% daun mengkudu dengan menggunakan SEM

Gambar 4. DTA fitosom ekstrak etanol 70% herba pegagan

Gambar 5. DTA fitosom ekstrak etanol 70% herba sambiloto

Gambar 6. DTA fitosom ekstrak etanol 70% daun mengkudu

30

Uraian Lengkap Invensi

Centella asiatica (pegagan), *Morinda citrifolia* (mengkudu) dan *Andrographis paniculata* (sambiloto) merupakan tanaman-tanaman yang menunjukkan potensi untuk dikembangkan menjadi obat fitofarmaka untuk terapi TB, baik secara tunggal maupun

35 kombinasi.

Ekstrak Etanol 70% herba pegagan, ekstrak etanol 70% herba sambiloto dan ekstrak etanol 70% daun mengkudu diperoleh melalui proses sebagai berikut : masing-

masing serbuk herba pegagan, serbuk herba sambiloto dan serbuk daun mengkudu diekstraksi dengan pelarut etanol 70% menggunakan maserasi dipercepat dengan microwave 6 x 10 detik dengan power 30%. Sebelum dimaserasi, serbuk herba pegagan sebanyak 250 g dibasahi dengan etanol 70% dan dimasukkan ke dalam wadah, 5 ditambahkan etanol 70% sampai 800 mL kemudian dimaserasi dengan microwave 6 x 10 detik dengan power 30%, lalu disaring. Filtrat dipisahkan dan residunya dimasukkan kembali ke dalam wadah, ditambahkan etanol 70% sebanyak 600 mL, dimaserasi dengan cara yang sama, lalu disaring. Filtrat kedua ini dicampur dengan Filtrat pertama dan residu dimasukkan kembali ke dalam wadah, ditambahkan etanol 70% sebanyak 10 600 mL dimaserasi dengan cara yang sama, lalu disaring. Filtrat ketiga ini dicampur dengan Filtrat sebelumnya dan residu dimasukkan kembali ke dalam wadah, ditambahkan etanol 70% sebanyak 500 mL dimaserasi dengan cara yang sama, lalu disaring. Keempat filtrat dicampur dan dipekatkan dengan rotavapor pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak sebanyak 100 mL. Ekstrak ini disimpan dalam wadah 15 tertutup rapat.

Kualitas dari ekstrak etanol 70% herba pegagan ditentukan dengan menentukan kadar senyawa marker aktif asiaticosida, dilakukan dengan KLT-Densitometri, menggunakan metode yang telah divalidasi. Fase gerak yang digunakan adalah hexane : etil acetate, 2 : 1 (v/v) yang dapat menghasilkan resolusi yang baik dan puncak yang 20 tajam pada $R_f = 0.52$. Kurva kalibrasi asiaticosida standart yang digunakan pada kadar 100 ng sampai 200 ng, dengan koefisien korelasi 0,997 intersep 1120,0877 dan slope 123,2347. Kadar asiaticosida dalam ekstrak etanol 70% herba pegagan menunjukkan 6,1 % dengan RSD 2,05%.

Kualitas dari ekstrak etanol 70% herba sambiloto ditentukan dengan 25 menentukan kadar senyawa marker aktif andrografolida, dilakukan dengan KLT-Densitometri, menggunakan metode yang telah divalidasi. Fase gerak yang digunakan adalah hexane : metanol, 9 : 1 (v/v) yang dapat menghasilkan resolusi yang baik dan puncak yang tajam pada $R_f = 0.48$. Kurva kalibrasi asiaticosida standart yang digunakan pada kadar 100 ng sampai 200 ng, dengan koefisien korelasi 0,998 intersep 1712,0722 30 dan slope 432,1347. Kadar andrografolida dalam ekstrak etanol 70% herba sambiloto menunjukkan 32,1 % dengan RSD 1,75%.

Kualitas dari ekstrak etanol 70% daun mengkudu ditentukan dengan menentukan kadar senyawa marker aktif skopoletin, dilakukan dengan KLT-Densitometri, menggunakan metode yang telah divalidasi. Fase gerak yang digunakan

adalah etil asetat : metanol, 1 : 1 (v/v) yang dapat menghasilkan resolusi yang baik dan puncak yang tajam pada $R_f = 0.56$. Kurva kalibrasi skopoletin standart yang digunakan pada kadar 100 ng sampai 200 ng, dengan koefisien korelasi 0,998 intersep 1112,0412 dan slope 243,1347. Kadar skopoletin dalam ekstrak etanol 70% herba sambiloto menunjukkan 2,7 % dengan RSD 1,86%.

Dari hasil penetapan kadar tersebut dibuat komposisi dengan perbandingan masing-masing ekstrak adalah 1:1:1 berdasarkan berat ekstrak.

Untuk mengetahui aktifitas antituberculosis dilakukan uji aktivitas menggunakan metode dilusi dan diperoleh Konsentrasi Hambat Minimum untuk masing-masing ekstrak dan campurannya.

Untuk memenuhi syarat sebagai antituberculosis yang efektif, masing-masing ekstrak maupun dibuat dalam bentuk fitosom dengan proses sebagai berikut : ekstrak yng masih dalam kondisi terlarut dalam pelarutnya ditambah dengan larutan fosfatidilkolin dengan perbandingan 3 : 1 (b/b) dihomogenizer dengan ultraturax 15000 rpm selama 5 menit, selanjutnya ditambahkan cabosil sebesar dua kali jumlah ekstrak dan fosfatidilkolin. Dari hasil uji karakterisasi menggunakan SEM terlihat bentukan-bentukan fitosom (gambar 1, 2 dan 3). Dari hasil uji karakterisasi mnggunakan DTA menunjukkan bahwa kompleks ekstrak dengan fosfatidilkolin telah terbentuk (gambar 4, 5 dan 6).

Selanjutnya dilakukan pengujian efektifitas antituberculosis in vitro menggunakan metode dilusi pada bentuk fitosom masing-masing ekstrak dan campurannya.

Tabel 1. Aktifitas terhadap *Mycobacterium tuberculosis*

| Bahan | MIC (ppm) |
|---------------------------|-----------|
| Ekstrak Pegagan | 0,06 |
| Ekstrak Sambiloto | 0,01 |
| Ekstrak Mengkudu | 0,04 |
| Campuran ekstrak | 0,08 |
| Fitosom ekstrak pegagan | 0,003 |
| Fitosom ekstrak Sambiloto | 0,0025 |
| Fitosom ekstrak Mengkudu | 0,001 |
| Campuran fitosom ekstrak | 0,0001 |
| Etambutol | 1,00 |

Klaim

1. Proses pembuatan campuran herbal yang mengandung Pegagan (*Centella asiatica*), Sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan Mengkudu (*Morinda citrifolia*) yang terdiri dari
 - 5 -Penyiapan simplisia;
 - Pengecilan ukuran partikel simplisia;
 - Ekstraksi 0,25 kg simplisia menggunakan 2,5 liter etanol 70% dilakukan dalam 4 tahap ekstraksi menggunakan metode maserasi menggunakan mikrowave 6 kali 10 detik dengan power 30%;
 - 10 -Pemekatan ekstrak dilakukan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak sebanyak 100 ml;
2. Proses menurut klaim 1 yang dikarakteristikkan penetapan kadar asiaticosida dengan metode Kromatografi Lapis Tipis-densitometer, dengan fase gerak menggunakan hexane : etil acetate, 2 : 1 (v/v).
- 15 3. Proses menurut klaim 1 yang dikarakteristikkan penetapan kadar andrografolid dengan metode Kromatografi Lapis Tipis-densitometer, dengan fase gerak menggunakan hexane : metanol, 9 : 1 (v/v).
4. Proses menurut klaim 1 yang dikarakteristikkan penetapan kadar skopoletin dengan metode Kromatografi Lapis Tipis-densitometer, dengan fase gerak menggunakan etil
 - 20 aasetat : metanol, 1 : 1 (v/v).
 5. Proses menurut klaim 1 yang dikarakteristikkan menghasilkan rendemen ekstrak sebesar 16,8%.
 6. Proses menurut klaim 1 yang dikarakteristikkan ekstrak pegagan mengandung 6,1% asiaticosida,
 - 25 7. Proses menurut klaim 1 dikarakteristikkan ekstrak sambiloto mengandung 32,1% andrografolida
 8. Proses menurut klaim 1 dikarakteristikkan ekstrak mengkudu mengandung 2,7% skopoletin
 9. Campuran ekstrak herbal yang mengandung Pegagan (*Centella asiatica*), Sambiloto
 - 30 (*Andrographis paniculata*) dan Mengkudu (*Morinda citrifolia*) dengan perbandingan 1:1:1 sebagai antituberculosis.
 10. Campuran menurut klaim 9 yang dikarakteristikkan penghantaran obat melalui bentuk fitosom membentuk kompleks fosfatidilkolin dengan perbandingan 3:1 (b/b).

Abstrak

CAMPURAN EKSTRAK HERBAL MENGANDUNG PEGAGAN (*Centella asiatica*), SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) DAN MENGGKUDU (*Morinda citrifolia*) SEBAGAI ANTI TUBERCULOSIS

5

Invensi ini menyediakan tentang formula obat herbal antituberculosis yang mengandung ekstrak herbal baik dalam bentuk aslinya maupun bentuk fitosomnya yang efektif dan potent. Proses pembuatan masing-masing ekstrak etanol 70% dengan metode maserasi yang dipercepat dengan microwave 6 x 10 detik dengan power 30%. Pembentukan kompleks fitosom dibuat dengan mencampurkan dengan fosfolipid. Agar diperoleh efektifitas yang terbaik maka masing-masing ekstrak etanol 70% dalam bentuk fitosom. Efektifitas antituberculosis diuji menggunakan metode dilusi dengan parameter Konsentrasi Hambat Minimum dan terbukti memiliki aktivitas antituberculosis.

10

15

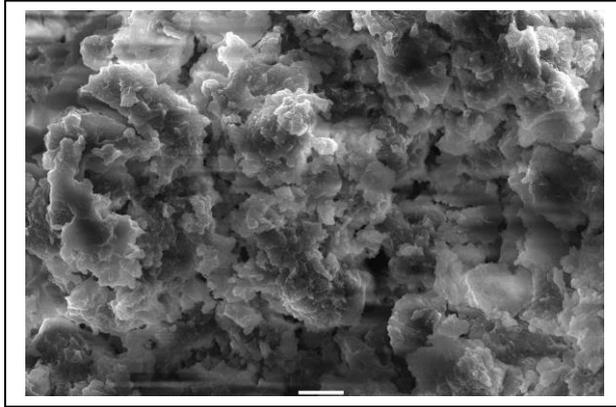
20

25

30

5

10

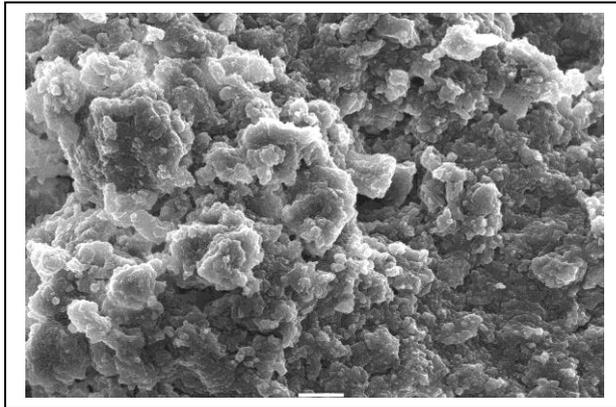


15

Gambar 1.

20

25

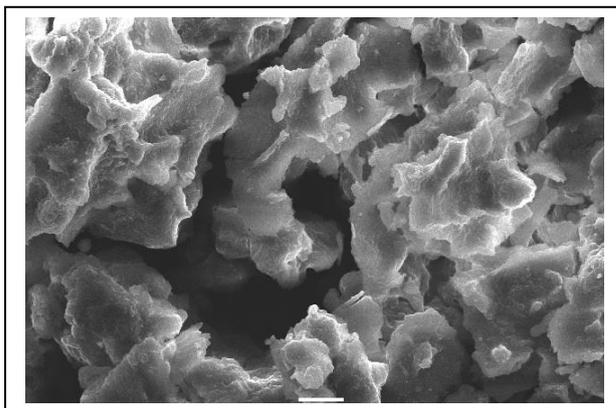


30

Gambar 2.

35

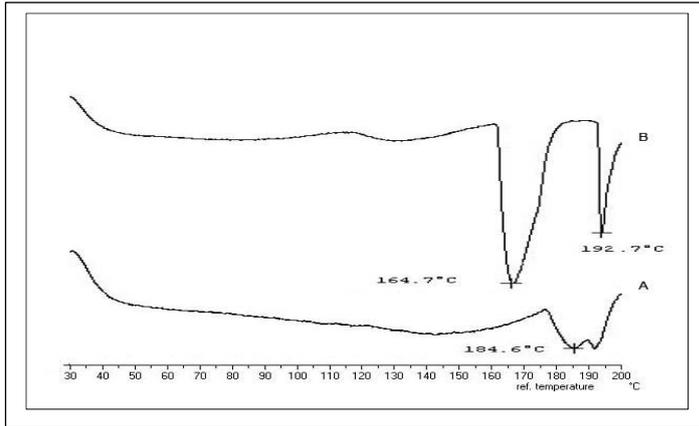
40



Gambar 3.

45

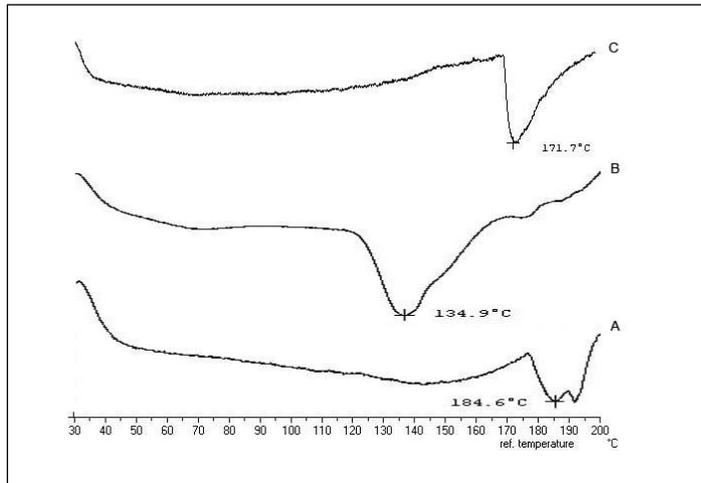
5



10

Gambar 4.

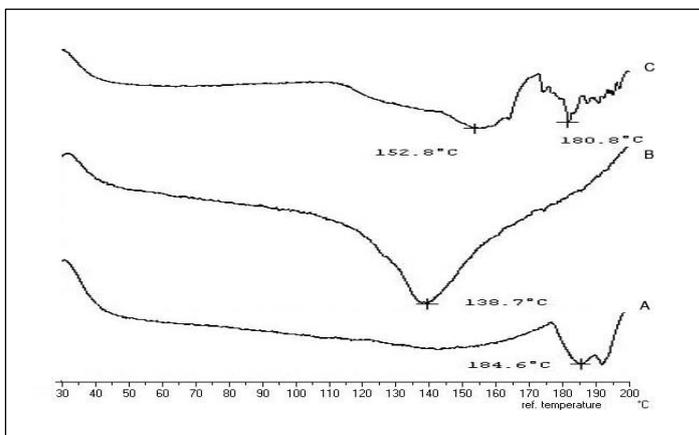
15



20

Gambar 5.

25



30

Gambar 6.