

ARTIKEL

AKTIVITAS SIRUP IMUNOMODULATOR "X" MEREDAM RADIKAL BEBAS 2,2'-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZIL

ACTIVITY OF "X" IMMUNOMODULATOR SYRUP ON 2,2'-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZIL RADICAL SCAVENGING ACTIVITY

Ichwan Ridwan Rais^{1*}, Andhika Septiawan¹, Meta Ayuni¹, Dhega Agung Wichaksono¹, Akrom^{1*}
Faculty of Pharmacy, Universitas Ahmad Dahlan

ABSTRACT

Oxidation is a transfers electron reaction from one substance to the oxidizing agent and resulting a product of free radicals. This process triggers a chain reaction that can damage cells. An antioxidant is a chemical substance which able to prevents the oxidation process. This present study aims to provide information about antioxidant activity from one immunomodulator herbal product sample which the identity was concealed. Antioxidants methods performed were radical scavenging activity by using the DPPH method. As the results, sample were performed the DPPH radical scavenging with IC₅₀ of 9.75 mg/mL. This value was indicated as no activity on antioxidant (IC₅₀ > 500 µg/mL).

Keywords: Antioxidant, 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Immunomodulator syrup

ABSTRAK

Oksidasi adalah proses reaksi perpindahan elektron dari suatu substansi ke senyawa pengoksidasi dan menghasilkan radikal bebas. Proses ini dapat memicu terjadinya kerusakan sel. Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat proses oksidasi. Sistem imun juga sangat rentan terhadap proses oksidasi terutama radikal bebas yang tidak terkontrol. Penelitian kali ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan satu sampel produk jadi sirup herbal imunomodulator yang identitasnya dirahasiakan. Metode antioksidan yang dilakukan adalah peredaman radikal bebas 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Hasil pengujian antioksidan sampel menggunakan metode DPPH menunjukkan nilai IC₅₀ 9,75 mg/mL. Nilai ini mengindikasikan bahwa sampel masuk dalam kategori tidak aktif antioksidan (IC₅₀ > 500 µg/mL).

Kata kunci: Antioksidan, 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Sirup imunomodulator

PENDAHULUAN

Oksidasi melibatkan keseimbangan pembentukan radikal bebas dengan kinerja antioksidan alami dalam tubuh. Radikal bebas banyak dihasilkan dari polusi udara, sisa pembakaran, rokok yang dapat meningkatkan konsentrasi pemejanan ke dalam tubuh (Kothari *et al.*, 2010). Proses ini dapat menimbulkan kerusakan sel dan mengganggu sistem imunitas

(Barcelos *et al.*, 2017). Antioksidan endogen seperti *superoxide dismutase (SOD)*, *glutathione peroxidase*, *glutathione (GSH)* secara alami dapat menangkal radikal bebas, akan tetapi biasanya konsentrasi antioksidan endogen ini rendah sehingga tubuh membutuhkan asupan antioksidan eksogen dari makanan atau suplemen (Szuroczki, *et al.*, 2016). Antioksidan terlibat dalam proses peningkatan imunitas tubuh (Knight, 2000). Komponen utama sel imun adalah asam lemak tak

*Corresponding author. Email: ichwan.rais@pharm.uad.ac.id; akrom@pharm.uad.ac.id

jenuh rantai panjang (*PUFAs / polyunsaturated fatty acids*) yang sangat sensitif terhadap radikal bebas. Antioksidan dapat melindungi sel imun dari kerusakan oksidatif dan menjaga integritas dan fungsi membrane lipid, asam nukleat dan protein selular (Aslani and Ghobadi, 2016). Vitamin yang memiliki aktivitas antioksidan kuat juga berkaitan dengan system imunitas seperti vitamin C dan vitamin E (Szuroczi, *et al.*, 2016). Berdasarkan keterkaitan ini, produk jadi sirup imunomodulator diduga memiliki aktivitas antioksidan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan adalah sampel adalah produk jadi sirup yang diklaim sebagai imunomodulator dengan identitas dan komposisi kandungan sirup yang tidak diketahui, standar quersetin (Sigma), metanol, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), lempeng KLT F254. Alat yang digunakan antara lain *vacuum freeze dryer Virtis 4K (Benchtop®)*, spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu 1800®*), alat gelas yang lazim digunakan (*Pyrex®*).

Preparasi sampel

Sampel produk jadi sirup imunomodulator merk "X" dikeringkan menggunakan *vacuum freeze dryer* pada suhu -40 °C. Hasil pengeringan disimpan dalam suhu dingin di lemari es dan siap untuk digunakan dalam proses pengujian.

Uji peredaman molekul radikal DPPH

Pengujian metode peredaman molekul radikal DPPH digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari sampel. Metode uji sesuai penelitian sebelumnya (Rais *et al.*, 2022) dengan modifikasi. Larutan induk standar

quersetin dengan konsentrasi 1 mg/mL dibuat dengan melarutkan 10 mg quersetin ke dalam 10 mL metanol. Seri larutan standar dengan konsentrasi 10, 11, 12, 13 dan 14 µg/mL dibuat dari larutan induk untuk memperoleh data kurva kalibrasi. Larutan sampel dari sirup imunomodulator dibuat dengan menimbang 1 g sampel dan dilarutkan ke dalam metanol, disaring lalu disempurnakan volume sampai 10 mL untuk mendapatkan konsentrasi 100 mg/mL. Seri larutan sampel dengan konsentrasi 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5 mg/mL diencerkan dari larutan induk sampel dalam metanol. Seluruh larutan standar dan sampel dicampur dengan larutan DPPH 0,1 mg/mL pada perbandingan 1:1 secara terpisah. Setiap campuran larutan digojog dan di inkubasi dengan bebas cahaya selama 30 menit.

Analisis Data

Aktivitas peredaman radikal DPPH dihitung menggunakan rumus:

$$DPPH \text{ scavenging activity (\%)} = \left[\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right] \times 100$$

Dimana A_0 adalah absorbansi larutan DPPH dan A_1 adalah absorbansi larutan standar atau sampel dengan DPPH. Regresi linier kurva baku ditentukan berdasarkan seri konsentrasi standar quersetin *versus* persen peredaman radikal DPPH, dan nilai IC_{50} sampel ditentukan berdasarkan seri konsentrasi sampel *versus* persen peredaman radikal DPPH.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian kali ini akan membuktikan aktivitas antioksidan sampel sirup yang diklaim memiliki indikasi sebagai imunomodulator. Sampel tidak diketahui komposisi kandungannya dan diberi kode "X". Sistem imunitas berkaitan erat dengan aktivitas antioksidan (Knight, 2000) melalui mekanisme aksi antioksidan endogen yang

sering kali tidak mencukupi, sehingga membutuhkan antioksidan eksogen (Szuroczki, *et al.*, 2016) yang dapat diperoleh dari asupan makanan, vitamin atau suplemen herbal. Oleh karena itu, produk jadi imunomodulator umumnya mengandung komposisi herbal yang juga memiliki aktivitas antioksidan seperti jinten (*Cuminum cyminum*), katuk (*Sauropus androgunus*) dan mengkudu (*Morinda citrifolia*) (Walid dan Izzati, 2021).

Sampel produk jadi sirup imunomodulator dipisahkan fase airnya menggunakan *vacuum freeze dryer Virtis 4K (Benchtop®)*. Proses pengeringan ini dilakukan untuk mendapatkan sampel dengan konsistensi kering dan konsentrasi yang lebih tinggi dalam satuan berat tertentu. Konsistensi kering sampel akan memudahkan proses pembuatan larutan uji sampel yang akan diukur parameternya terutama bila menggunakan pelarut selain air. Konsentrasi yang lebih tinggi dalam setiap satuan berat tertentu akan memudahkan dalam pengukuran uji aktivitas dengan melampaui batas deteksi standar pengukuran instrument yang digunakan. Persentase rendemen sampel yang diperoleh sebesar 67,57 % (b/b). Hasil persentase rendemen mengindikasikan komponen sirup sebagian besar adalah bahan aktif yang didukung oleh konsistensi sirup sebelum pengeringan berupa larutan kental yang masih mudah dituang.

Uji aktivitas antioksidan sampel dilakukan menggunakan metode peredaman radikal bebas *2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Metode ini sangat umum digunakan untuk mengetahui dan mengukur potensi dan kekuatan daya antioksidan suatu sampel. Suatu senyawa antioksidan akan memberikan elektron hydrogen kepada DPPH dan akan membentuk senyawa DPPH-H (1-diphenyl-2-picrylhydrazine) yang dapat menunjukkan warna kuning intensif (Sukweenadhi *et al.*, 2020). Berdasarkan hasil pengujian, kurva kalibrasi standar quersetin menghasilkan persamaan regresi linier $Y = 4,521x+8,159$ dengan nilai $r^2 = 0,999$. Hubungan linearitas kedua sumbu semakin ideal bila angka yang diperoleh semakin mendekati angka 1 (Kartikarini *et al.*, 2011). Nilai IC_{50} standar quersetin sebesar 9,227 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan kriteria aktivitas antioksidan dengan kemampuan meredam radikal bebas DPPH, quersetin termasuk dalam kategori sangat kuat ($IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$) (Molyneux, 2004) dan sejalan dengan hasil penelitian yang lain (Rais, *et al.*, 2022; Rusmana *et al.*, 2017). Hasil pengujian aktivitas peredaman radikal bebas DPPH dari sampel sirup imunomodulator memiliki nilai $IC_{50} = 9.752,188 \pm 143,415 \mu\text{g/mL}$ seperti terlihat dalam Tabel 1. Nilai IC_{50} sampel termasuk kategori tidak memiliki aktivitas antioksidan ($IC_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$) (Molyneux, 2004).

Tabel 1. Nilai kuantitatif peredaman radikal bebas DPPH oleh sampel

IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	IC_{50} Sampel Sirup				
	Persen penangkapan radikal bebas DPPH (%)				
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 4	Replikasi 5
	9.905,571	9.814,341	9.593,313	9.721,879	9.726,406
Rerata \pm LE ($\mu\text{g/mL}$)	9.752,188 \pm 143,415				

Catatan: $IC_{50} = 50\%$ konsentrasi peredaman; regresi linier $Y = 4,521x+8,159$ dan $r^2 = 0,999$.

Sebagaimana penjelasan diatas, sampel sirup imunomodulator biasanya mengandung komposisi herbal antioksidan seperti katuk, jinten dan mengkudu. Lebih jauh, proses preparasi sampel menggunakan metode *vacuum freeze dryer* dapat membuat konsentrasi yang lebih tinggi dalam setiap satuan berat tertentu dari sampel dan akan memudahkan dalam pengukuran uji aktivitas dengan melampaui batas deteksi standar pengukuran instrument yang digunakan. Namun, hasil pengujian menunjukkan hal sebaliknya, yaitu tidak memiliki aktivitas antioksidan karena nilai IC_{50} yang lebih besar dari 500 $\mu\text{g/mL}$. Hipotesis yang dapat dijelaskan disini adalah komposisi kandungan kimia tanaman sebagai bahan baku produk jadi sirup imunomodulator dapat dipengaruhi oleh faktor eksternal lingkungan seperti tempat tumbuh, kondisi tanah, ketinggian dan kelembapan (Alfian dan Susanti, 2012). Selain bahan baku, proses yang terjadi selama produksi juga dapat mempengaruhi komponen bahan aktif seperti metode ekstraksi atau adanya pemanasan (Rais, 2016; Krismawulan, 2010). Faktor lain adalah komposisi bahan aktif sirup yang dikurangi persentase kandungannya untuk mengurangi rasa tidak enak yang biasanya ditimbulkan dari herbal sebagai bahan aktif sirup imunomodulator, karena semakin besar komposisi bahan aktif akan semakin menimbulkan rasa tidak enak atau pahit (Sari *et al.*, 2016). Pembuktian terbaik potensi simplisia dengan senyawa aktif antioksidan yang diformulasikan dalam suatu produk herbal imunomodulator adalah dengan menemukan aktivitas antioksidannya sebagai produk dalam penelitian lebih lanjut.

KESIMPULAN

Hasil pengujian antioksidan sampel produk jadi sirup imunomodulator menggunakan

metode DPPH menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 9.752,188 $\mu\text{g/mL}$. Nilai ini mengindikasikan bahwa sampel termasuk dalam kategori tidak memiliki aktivitas antioksidan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih atas dukungan dana dari program Matching Fund UAD-UMY-UNIMUDA Tahun 2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfian, R., dan Susanti, H., 2012. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian.*, 2(1):73-80.
- Aslani, B.A., and Ghobadi, S. 2016. Studies on Oxidants and Antioxidants with a Brief Glance at Their Relevance to the Immune System. *Life Sci.* 146:163-73.
- Barcelos, R.P., Royes, L.F.F., Gallego, J.G., and Bresciani, G., 2017. Oxidative Stress and Inflammation: Liver Responses and Adaptation to Acute and Regular Exercise, *Free Radic Res.*, 51(2):222-236.
- Kartikarini, V.D., Sampurno, Wahyono, D., 2011. Pengaruh Kualitas Produk dan Bauran Promosi R” PT Air mancur Terhadap Keputusan Pembelian Konsumen di Kota Surakarta. *Jurnal manajemen dan Pelayanan Farmasi*, 1(1):56-61.
- Knight, J.A. 2000. Review: Free Radicals, Antioxidants, and the Immune System. *Ann Clin Lab Sci.* 30(2):145-58.
- Kothari, S., Thompson, A., Agarwal, A., & Plessis, S. S. (2010). *Free radicals : Their beneficial and detrimental effects on sperm function.* 48(May), 425–435.
- Krismawulan, 2010. Pengaruh Tahapan Pencucian, Pengerangan, dan Ekstraksi Rimpang Kunyit (*Curcuma domesticae* Val.) Terhadap Jumlah Cemarkan Kapang/Khamir. *Skripsi.* Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. 50(June 2003).
- Rais, I. R., 2016. Antioxidant Activity of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Ness Extract Depends on Two Evaporation Difference. *Pharmaciana.* 6(1):95–100.
- Rais, I.R., Septiawan, A., Ayuni, M., Wichaksono, D.A., and Sulistyani, N. 2022. The Antioxidant

- Activity of Several Antidiabetic Herbal Products. *Pharmaciana*. 12(2):253-262.
- Rusmana, D., Wahyudianingsih, R., Elisabeth, M., Balqis, Maesaroh, and Widowati, W., 2017. Antioxidant Activity of *Phyllanthus niruri* Extract, Rutin and Quercetin. *The Indo Biomed J*. 9(2):84-90.
- Sari, Y.W., Mustofa, A., dan Kurniawati, L., 2016. Karakteristik Sirup Herbal Fungsional "SIJALA" (Sirih Merah-Jahe-Rosella) Sebagai Sumber Antioksidan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 1(2):79-87.
- Sukweenadhi, J., Yunita, O., Setiawan, F., Siagian, M. T., Danduru, A. P., & Avanti, C. (2020). Antioxidant activity screening of seven Indonesian herbal extract. 21(5), 2062–2067.
- Szuroczki, D., Koprivnikar, J., and Baker, R.L. 2016. Dietary Antioxidants Enhance Immunocompetence in Larval Amphibians. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 201:182-188.
- Walid, M., and Izzati, L., 2021. Imunomodulator dari Herbal. *Jurnal Abdimas*. Vol.2-2021 Edisi Khusus Dies Natais Unikal ke-40.