



VOLUME 1 NOMOR 1
JUNI TAHUN 2018

Jurnal Farmasi Medica

Pharmacy Medical Journal



PMJ	Vol. 1	No. 1	Hal 1- 41	2018
-----	--------	-------	-----------	------

**Program Studi Farmasi
Fakultas Matematika dan
Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sam Ratulangi**

FORMULASI DAN UJI STABILITAS FISIK SEDIAAN MASKER GEL *PEEL-OFF* EKSTRAK ETANOL DAUN MIANA (*Coleus Scutelleroides* (L.) Benth.) DENGAN BERBAGAI BASIS**Indriyani Arman^{1)*}, Hosea Jaya Edy¹⁾, Karlah L.R Mansauda¹⁾**¹⁾**Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115**

Email: indriyaniarmann@gmail.com

Abstract

Miana leaves (*Coleus Scutelleroides* (L.) Benth.) contained flavonoid compounds that has antioxidants properties. This study aimed to formulate peel-off gel mask ethanol extract from Miana leaves became peel-off gel mask that is physically stable and to knows the type of base that form a formulation with good physical quality based on the test parameters of physical properties and the stability of preparation. Formulation of peel-off gel mask ethanol extract of miana leaves used three different types of base, they are HPMC, Carbopol, and Na.CMC. Each formula is differentiated based on base of concentration which were HPMC 4%, carbopol 1%, and Na.CMC 3%. Evaluation to predict the physical stability of the preparation included organoleptic test, homogeneity test, pH test, dispersion test, adhesion test and dry time test. In stability test, each formula is placed at temperature 27 °C for 28 days and made observation on the 1st, 7th, 14th, 21th, and 28th day. Based on the result, the ethanol extract of Miana leaves can be formulated into a peel-off mask and formulation with HPMC and Carbopol base has a good physical quality and physically stable compared to Na.CMC base.

Keywords: Miana Leaves, Peel-Off Gel Mask, Stability Teh

Abstrak

Daun Miana (*Coleus Scutelleroides* (L.) Benth.) memiliki kandungan senyawa flavonoid yang berkhasiat sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk memformulasikan ekstrak etanol daun Miana menjadi masker gel *peel-off* yang stabil secara fisik serta mengetahui jenis basis yang membentuk formulasi sediaan masker dengan mutu fisik yang baik berdasarkan parameter uji sifat fisik dan stabilitas sediaan. Formulasi sediaan masker gel *peel-off* ekstrak etanol daun Miana dibuat dengan menggunakan tiga jenis basis yang berbeda yaitu HPMC, karbopol, dan Na.CMC. Masing-masing formula dibedakan berdasarkan basis konsentrasi yaitu HPMC 4%, karbopol 1%, dan Na.CMC 3%. Evaluasi yang dilakukan terhadap stabilitas fisik sediaan masker gel *peel-off* meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar, uji daya lekat, dan uji waktu mengering. Uji stabilitas dilakukan pada suhu kamar (27 °C) selama 28 hari dan dilakukan pengamatan pada hari ke 1, 7, 14, 21, dan 28. Hasil uji stabilitas fisik sediaan masker gel *peel-off* ekstrak etanol daun Miana dapat diformulasikan dalam bentuk sediaan masker gel *peel-off*, dan formula masker dengan basis HPMC dan karbopol memiliki mutu fisik yang baik dan stabil secara fisik dibandingkan dengan basis Na.CMC.

Kata kunci: Daun Miana, Masker gel *peel-off*, Uji Stabilitas.

PENDAHULUAN

Kosmetik yang biasa digunakan untuk kulit wajah memiliki banyak bentuk sediaan. Bahan kosmetik ditujukan untuk kulit wajah seringkali bertujuan untuk regenerasi, mengencangkan, menyegarkan kulit, dan berfungsi sebagai antioksidan. Penggunaan antioksidan pada wajah direkomendasikan dalam bentuk sediaan topikal daripada sediaan oral (Pouillot *et al.*, 2011).

Salah satu kosmetik yang dapat mengatasi kulit kering kusam adalah komposisi masker karena masker mengandung bahan-bahan untuk

melembabkan kulit wajah. Penggunaan masker wajah tidak hanya melembabkan kulit, tetapi juga memiliki beberapa manfaat yaitu, melembutkan kulit, membuka pori-pori yang tersumbat oleh kotoran dan residu kosmetik yang tidak dapat dihilangkan oleh pembersih biasa dan mengangkat sel kulit mati (Muliyanan *et al.*, 2013).

Banyak bahan alam yang diketahui dapat digunakan sebagai bahan kosmetik, salah satunya yaitu ekstrak daun miana (*Coleus scutelleroides* (L.) Benth.) yang memiliki kandungan senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan

dapat digunakan untuk perawatan kulit (Podungge, 2017). Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, diketahui bahwa ekstrak etanol 96% daun miana memiliki kandungan flavonoid yang cukup tinggi yaitu rata-rata 8,59 mgRE/gram (Arisanti *et al.*, 2018). Hardiyanti *et al.* (2013) juga meneliti bahwa ekstrak daun miana mengandung zat antioksidan yaitu antosianin dan memiliki aktivitas antioksidan sebesar 84,64%. Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Mardiatul *et al.* (2016), yang meneliti stabilitas fisik dan aktivitas antioksidan sediaan gel ekstrak etanol daun miana (*Coleus scutelleroides* (L.) Benth.) diperoleh hasil persen aktivitas antioksidan pada konsentrasi 1 % memiliki aktivitas yang stabil secara fisik. Hasil penelitian tersebut disarankan untuk melakukan pengujian stabilitas ekstrak daun miana dengan menggunakan basis gel yang berbeda, dan saat ini belum ada penelitian ilmiah daun miana (*Coleus scutelleroides* (L.) Benth.) yang diformulasikan dalam bentuk sediaan masker gel *peel-off*, dan untuk membuat formulasi masker maka harus memilih bahan dasar yang dapat menggabungkan semua bahan menjadi sediaan yang homogen. Pemilihan jenis basis didasarkan pada sifat-sifat polimer seperti Karbopol, *Hidroxy Propil Methyl Cellulose* (HPMC), dan Natrium Karboksimetil Selulosa (Na.CMC).

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2020 sampai Maret 2021 di Laboratorium Farmasi Lanjut Divisi Teknologi, Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi Manado.

Alat dan Bahan

a. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian adalah peralatan gelas laboratorium (Iwaki Pyrex[®]), *hot plate* (Nescolab[®]), lemari pendingin (Sharp[®]), timbangan analitik (Ae Adam[®]), sudip, kaca preparat, *aluminium foil*, oven, gunting, batang pengaduk, blender, lumpang dan alu, penggaris, corong, *stopwatch*, kamera, ayakan, pipet mikro, dan pH meter.

b. Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun miana (*Coleus scutelleroides* (L.) Benth.), etanol 96%, karbopol, *Hidroxy Propil Methyl Cellulose*

(HPMC), Natrium Karboksimetil Selulosa (Na.CMC), Polivinil Alkohol (PVA), propilenglikol, Trietanolamin (TEA), dan aquadest.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi

Ekstrak daun miana dibuat dengan cara maserasi. Serbuk daun miana sebanyak 100 g yang telah dihaluskan dimasukkan kedalam wadah maserasi, kemudian direndam dengan pelarut etanol 96% sebanyak 500 ml lalu diamkan selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Setelah itu dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring dan menghasilkan filtrat dan residu. Residu yang ada diremaserasi dengan menggunakan jenis dan jumlah pelarut yang sama lalu diamkan lagi selama 2 hari. Kemudian filtrat 1 dan 2 digabungkan dan selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan oven pada suhu 40°C untuk mendapatkan ekstrak kental daun miana.

Formulasi

Sediaan masker gel *peel-off* dibuat dengan menggunakan 3 basis yang berbeda, yaitu HPMC 4%, Karbopol 1%, dan Na.CMC 3%. Formula masker gel *peel-off* sebagai berikut.

Tabel 1. Formulasi masker gel *peel-off* ekstrak etanol daun miana

Bahan	Kegunaan	Formulasi		
		F1 (%)	F2 (%)	F3(%)
Ekstrak daun miana	Zat aktif	1	1	1
HPMC	Basis gel	4	-	-
Karbopol	Basis gel	-	1	-
Na.CMC	Basis gel	-	-	3
PVA	<i>Filming agent</i>	14	14	14
TEA	Surfaktan	1	1	1
Propilenglikol	Humektan	15	15	15
Metil Paraben	Pengawet	0,2	0,2	0,2
Aquadest	Pelarut	Ad 100	Ad 10 0	Ad 10 0

Pembuatan Sediaan Masker Gel Peel-off

Sediaan masker gel dibuat dengan cara masing-masing basis dikembangkan terlebih dahulu. Basis Karbopol, HPMC, dan Na.CMC dikembangkan dalam aquadest dan didiamkan hingga mengembang selama 1x24 jam. Karbopol dan Na.CMC dikembangkan menggunakan aquadest 70°C hingga mengembang membentuk basis, sedangkan HPMC dikembangkan menggunakan aquadest dingin 29°C dan diaduk terus menerus hingga mengembang. PVA dilarutkan dengan aquadest 80°C lalu dipanaskan diatas penangas dan diaduk hingga homogen, dimasukkan masing-masing basis gel dan TEA kedalam massa PVA dan diaduk sampai homogen. Metil paraben dilarutkan dalam propilenglikol lalu dimasukkan ke dalam basis, setelah itu dimasukkan ekstrak daun miana yang telah diencerkan dengan aquadest secara bertahap sambil diaduk hingga homogen.

Evaluasi Sediaan

a. Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan cara mengamati secara langsung perubahan yang terjadi pada sediaan masker gel, seperti perubahan warna, bau, dan bentuk (Septiani *et al.*, 2011).

b. Uji Homogenitas

Sediaan masker gel sebanyak 1 g dioleskan pada kaca preparat, diamati apakah ada bagian yang tidak tercampur. Sediaan masker gel harus memiliki susunan yang homogen dan tidak adanya butir-butir kasar terlihat (Septiani *et al.*, 2011).

c. Uji pH

Uji pH menggunakan pH meter dengan cara sediaan masker ditimbang 1 g kemudian dilarutkan dalam 10 ml aquadest dan diaduk hingga merata, setelah itu dicelupkan pH meter kedalam larutan dan dicatat hasilnya. Sediaan masker gel yang dibuat harus memiliki pH yang sesuai dengan pH kulit, yaitu 4,5-6,5 (Tranggono *et al.*, 2007)

d. Uji Daya Sebar

Sediaan masker gel sebanyak 1 g dioleskan pada kaca, kemudian dioleskan pada kaca lain diatas sediaan dan diberikan pemberat 150 g selama 1 menit, lalu diukur diameternya. Sediaan masker gel yang baik memiliki daya sebar antara 5-7 cm (Shovyana *et al.*, 2013).

e. Uji Daya Lekat

Sediaan masker gel sebanyak 1 g dioleskan pada kaca preparat yang ditutup dengan kaca preparat lain, kemudian diberikan pemberat 250 g selama 5 menit. Kaca preparat dipasangkan pada alat uji dan dilakukan pengukuran waktu daya lekat yang dimulai saat pemberat pada alat uji dilepas hingga lepasnya kedua kaca preparat. Sediaan masker gel sebaiknya memiliki daya lekat lebih dari 4 detik (Septiani *et al.*, 2011).

f. Uji Waktu Meringing

Sediaan masker gel sebanyak 1 g dioleskan pada punggung tangan, kemudian dihitung waktu mengering sediaan masker sampai mengering membentuk lapisan film menggunakan stopwatch. Waktu kering sediaan masker gel yang baik yaitu antara 15-30 menit (Vieira, 2009).

g. Uji Stabilitas

Sediaan masker gel diuji stabilitasnya dengan memperhatikan perubahan warna, bentuk, bau, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, dan waktu mengering. Formulasi sediaan sebanyak 100 g masing-masing ditempatkan dalam suhu kamar (27 °C) selama 28 hari, serta dilakukan pengamatan pada hari ke 1, 7, 14, 21, dan 28 (Priani *et al.*, 2015).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Sampel daun Miana diperoleh sebanyak 2 kg dan sampel kering memiliki berat hingga 1,1 kg. Pengerinan bertujuan untuk mengurangi kadar air daun Miana. Salah satu tanda sampel kering adalah menjadi rapuh saat diremas dengan tangan. Kerapuhan sampel ini menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung kurang dari 10% air (Sitepu, 2010) dan pengeringan mencegah pertumbuhan jamur sehingga sampel dapat disimpan untuk jangka waktu yang lama. Hasil serbuk simplisia yang diperoleh sebanyak 100 g. Pada penelitian ini, ekstraksi yang dilakukan menggunakan metode maserasi. Proses maserasi memiliki keunggulan lain dibandingkan metode ekstraksi lainnya, yaitu cara pengerjaannya sederhana, peralatannya mudah ditemukan dan tidak memerlukan alat khusus. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi ini adalah etanol 96%. Menurut Runadi (2007), etanol merupakan pelarut universal yang dapat menarik sebagian besar senyawa yang ada dalam tumbuhan, dan selektif dalam melarutkan

senyawa yang diinginkan serta lebih efisien dalam degradasi dinding sel sehingga senyawa seperti flavonoid akan tersari lebih banyak. Berat ekstrak kental yang diperoleh selama proses maserasi adalah 8,7 g.

a. Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan melihat secara visual dan mengamati perubahan warna, bau, dan bentuk dari formulasi masker gel selama penyimpanan pada suhu kamar selama 28 hari. Hasil pengamatan organoleptik ditunjukkan pada **Tabel 2**.

Evaluasi Sediaan Masker Gel *peel-off*

Tabel 2. Hasil Uji Organoleptik Sediaan pada Suhu Kamar (27 °C)

Formula	Kondisi	Jenis Pemeriksaan		
		Warna	Bau	Bentuk
F1 (basis HPMC)	Sebelum Penyimpanan	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Sesudah Penyimpanan			
	Hari ke-7	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Hari ke-14	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Hari ke-21	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Hari ke-28	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Sebelum Penyimpanan	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Sesudah Penyimpanan			
	Hari ke-7	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Hari ke-14	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
Hari ke-21	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid	
Hari ke-28	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid	
F2 (basis karbopol)	Sebelum Penyimpanan	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Sesudah Penyimpanan			
	Hari ke-7	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Hari ke-14	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Hari ke-21	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Hari ke-28	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Sebelum Penyimpanan	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Sesudah Penyimpanan			
	Hari ke-7	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Hari ke-14	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
Hari ke-21	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid	
Hari ke-28	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid	
F3 (basis Na.CMC)	Sebelum Penyimpanan	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Sesudah Penyimpanan			
	Hari ke-7	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Hari ke-14	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Hari ke-21	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Hari ke-28	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Sebelum Penyimpanan	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Sesudah Penyimpanan			
	Hari ke-7	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
	Hari ke-14	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid
Hari ke-21	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid	
Hari ke-28	Coklat Gelap	Khas Ekstrak	Semi Solid	

Pengamatan organoleptik menunjukkan bahwa masker gel *peel-off* ekstrak etanol daun

Miana yang dibuat dengan menggunakan 3 basis yang berbeda tidak mengalami adanya perubahan

warna, bau, dan bentuk baik itu sebelum maupun setelah penyimpanan selama 28 hari pada suhu kamar. Bau dan warna sediaan berasal dari ekstrak daun Miana. Warna coklat pada masker disebabkan oleh proses degradasi pigmen klorofil pada daun Miana. Perubahan warna daun menjadi kecoklatan juga berkaitan dengan kadar air daun yang melibatkan reaksi enzimatis. Semakin lama proses pengeringan, semakin lama air berada di dalam simplisia maka semakin besar memungkinkan terjadinya reaksi degradasi klorofil menjadi feofitin yang berwarna coklat. Hasil studi secara visual menunjukkan bahwa

waktu *curing* (pengeringan) yang lebih lama, menurunkan intensitas warna daun dan meningkatkan intensitas warna coklat bertambah (Wiraguma *et al.*, 2010).

b. Uji Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui homogenitas suatu sediaan dan mengidentifikasi kemungkinan terjadinya perubahan. Sediaan homogen ditunjukkan dengan tidak adanya partikel atau butiran kasar dalam sediaan. Hasil uji homogenitas ditunjukkan pada **tabel 3**.

Tabel 3. Hasil Uji Homogenitas Sediaan pada Suhu Kamar (27 °C)

Formula	Homogenitas				
	Sebelum Penyimpanan n	Sesudah Penyimpanan			
		7	14	21	28
F1 (basis HPMC)	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
F2 (basis karbopol)	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
F3 (basis Na.CMC)	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen

Hasil uji dari ketiga formula menunjukkan bahwa F1 (basis HPMC), F2 (basis Karbopol) dan F3 (basis Na.CMC) homogen dan tidak mengalami perubahan baik sebelum maupun sesudah penyimpanan pada suhu kamar selama 28 hari. Hasil pengamatan menunjukkan homogenitas yang baik karena semua sediaan bebas partikel kasar saat masker gel dioleskan pada kaca preparat. Formula yang dibuat dapat dikatakan stabil karena memiliki komposisi yang homogen dan hal ini menunjukkan bahwa bahan-

bahan yang terkandung di dalamnya sudah cukup tercampur dengan baik (Fitriana, 2012).

c. Uji pH

Uji pH bertujuan untuk menentukan pH formula yang sesuai dengan pH kulit agar meminimalkan reaksi iritasi pada saat pemakaian. Masker gel *peel-off* adalah sediaan yang digunakan untuk kulit wajah dan nilai pH dari sediaan tersebut harus sesuai dengan pH kulit wajah yaitu 4,5-6,5. Hasil uji pH ditunjukkan pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Hasil Uji pH Sediaan pada Suhu Kamar (27 °C)

Formula	Rata-Rata Nilai pH				
	Sebelum Penyimpanan n	Sesudah Penyimpanan			
		7	14	21	28
F1 (basis HPMC)	6,39	6,16	5,88	6,14	6,05
F2	6,31	6,13	6,23	6,01	6,13

(basis karbopol)					
F3 (basis Na.CMC)	5,93	5,79	6,02	5,87	5,70

Hasil pengujian pH yang diperoleh menunjukkan bahwa nilai pH F1 (basis HPMC), F2 (basis Karbopol) dan F3 (basis Na.CMC) memenuhi syarat rentang pH yang dapat diterima oleh kulit. Nilai pH suatu sediaan jika terlalu asam < 4,5 dapat menyebabkan kulit iritasi, sedangkan jika terlalu basa > 6,5 dapat menyebabkan kulit bersisik (Rahmawanty *et al.*, 2015). Nilai pH pada sediaan terjadi penurunan tetapi tetap dalam rentang pH normal, karena disebabkan kandungan senyawa flavonoid yang sedikit asam yang terkandung dalam ekstrak daun Miana (Podungge *et al.*, 2017). Menurut Young *et al.* (2002)

perubahan pH dalam formulasi kemungkinan akan dipengaruhi oleh lingkungan yang terdekomposisi pada suhu tinggi selama pembuatan atau penyimpanan yang menghasilkan asam atau basa, dan penyimpanan yang kurang baik.

d. Uji Daya Sebar

Uji daya sebar digunakan untuk menentukan kemampuan menyebar sediaan masker gel ketika diaplikasikan pada kulit, semakin besar permukaan kontak sediaan, maka semakin baik penyerapan zat ke dalam kulit. Hasil uji daya sebar ditunjukkan pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Hasil Uji Daya Sebar Sediaan pada Suhu Kamar (27 °C)

Formula	Rata-Rata Diameter Daya Sebar (cm)				
	Sebelum Penyimpanan	Sesudah Penyimpanan			
		7	14	21	28
F1 (basis HPMC)	5,9	6,5	5,7	5,2	5,1
F2 (basis karbopol)	5,4	5,6	5,7	5,9	6,0
F3 (basis Na.CMC)	5,1	4,7	4,6	4,4	4,2

Hasil pengujian daya sebar yang diperoleh menunjukkan bahwa ketiga formula sediaan masker gel *peel-off* sebelum penyimpanan menunjukkan daya sebar yang baik. Hasil uji daya sebar setelah penyimpanan selama 28 hari untuk F1 (basis HPMC) dan F2 (basis karbopol) berada pada standar daya sebar yang baik, sedangkan untuk F3 (basis Na.CMC) menunjukkan daya sebar yang kurang baik < 5 cm. Hal ini dikarenakan F3 (basis Na.CMC) adalah formula dengan konsistensi paling kental yang dimana semakin kental sediaan, maka semakin kecil kemungkinannya akan menyebar. Penurunan daya sebar selama penyimpanan dapat terjadi karena tertahannya cairan pelarut yang diabsorpsi oleh agen pembentuk gel (*gelling agent*). *Gelling agent*

Na-CMC mempunyai daya kohesi yang besar yang dapat menyebabkan interaksi diantara molekul sejenis menjadi lebih besar sehingga penyebaran sediaan menjadi sulit (Maulina *et al.*, 2015).

e. Uji Daya Lekat

Uji daya lekat bertujuan untuk mengukur lamanya waktu kontak sediaan dengan permukaan kulit, suatu sediaan dapat dikatakan baik apabila mempunyai daya lekat yang besar. Kemampuan melekat suatu sediaan yang rendah akan mengakibatkan sediaan mudah lepas dari kulit dan efek yang diberikan tidak maksimal. Daya melekat sediaan yang baik adalah lebih dari 4 detik (Septiani *et al.*, 2011). Hasil uji daya lekat ditunjukkan pada **Tabel 6**.

Tabel 6. Hasil Uji Daya Lekat Sediaan pada Suhu Kamar (27 °C)
Rata-Rata Daya Lekat (detik)

Formula	Sebelum Penyimpanan n	Sesudah Penyimpanan			
		7	14	21	28
F1 (basis HPMC)	24,75	25,3 2	26,0 4	26,4 7	26,98
F2 (basis karbopol)	20,07	19,5 8	19,0 9	18,5 1	17,44
F3 (basis Na.CMC)	29,12	29,5 2	30,0 6	30,5 9	31,12

Hasil pengujian daya lekat yang diperoleh setelah penyimpanan selama 28 hari pada suhu kamar menunjukkan bahwa ketiga formula sediaan masker gel *peel-off* yaitu F1 (basis HPMC), F2 (basis Karbopol) dan F3 (basis Na.CMC) memenuhi persyaratan secara teoritis. Formula memiliki daya lekat masing-masing yang cenderung semakin menurun, menurut Rahmawanty *et al.* (2015), daya lekat sediaan masker gel yang menurun akibat oksidasi komponen masker gel sehingga terjadi penurunan daya lekat, namun daya lekat ketiga formula masih memenuhi syarat.

f. Uji Waktu Mengering

Salah satu syarat yang harus dipenuhi oleh sediaan masker gel *peel-off* adalah kemampuan formula untuk mengering saat diaplikasikan pada kulit. Uji waktu mengering bertujuan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan sediaan untuk mengering dan membentuk lapisan film. Waktu mengering sediaan masker gel *peel-off* yang baik adalah 15-30 menit (Vieira, 2009). Hasil uji waktu mengering ditunjukkan pada **Tabel 7**.

Tabel 7. Hasil Uji Waktu Mengering Sediaan pada Suhu Kamar (27 °C)
Rata-Rata Waktu Mengering (menit/detik)

Formula	Sebelum Penyimpanan n	Sesudah Penyimpanan			
		7	14	21	28
F1 (basis HPMC)	23,76	24,62	25,32	26,0 3	26,86
F2 (basis karbopol)	15,56	16,62	18,06	19,8 4	21,87
F3 (basis Na.CMC)	29,97	31,67	33,54	34,8 3	36,45

Hasil pengujian waktu mengering sediaan yang diperoleh setelah penyimpanan selama 28 hari pada suhu kamar menunjukkan bahwa formula F1 (basis HPMC) dan F2 (basis Karbopol) masih pada rentang waktu sesuai persyaratan, sedangkan untuk F3 (basis Na.CMC) memiliki waktu sediaan mengering lebih lama setelah penyimpanan dan sudah tidak memenuhi syarat sediaan. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan, maka semakin lama formula masker gel mengering karena waktu yang dibutuhkan sediaan untuk mengering semakin meningkat. Hal ini dapat disebabkan karena banyaknya kandungan air pada formula dapat memperlambat penguapan dan memperpanjang waktu mengering sediaan (Shovyana *et al.*, 2013). Formula masker gel *peel-off* juga mengandung propilenglikol sebagai humektan sehingga kenaikan waktu kering juga dapat dipengaruhi oleh propilenglikol yang bersifat higroskopis dengan afinitas yang tinggi untuk menarik dan menahan molekul air dengan cara mengabsorpsi lembab dari lingkungan dan mengurangi penguapan air dari formula (Shovyana *et al.*, 2013).

KESIMPULAN

1. Ekstrak etanol daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.) dapat diformulasikan dalam bentuk sediaan masker gel *peel-off* yang stabil secara fisik.
2. Formula masker gel *peel-off* ekstrak etanol daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.) dengan basis HPMC dan karbopol memiliki mutu fisik yang baik dan stabil dibandingkan dengan basis Na.CMC.

DAFTAR PUSTAKA

- Arisanti, D., dan A. Fatmawati. 2018. Potensi Flavonoid Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpureus*) Sebagai Senyawa Anti Mycobacterium tuberculosis Strain H37rv Dan Mdr Dengan Microscopy Observation Drug Susceptibility (Mods). *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. **9(18)**: 61-73.
- Fitriana, N. 2012. Formulasi Gel Ekstrak Daun Beluntas (*Pluceaindica Less*) dengan Na.CMC sebagai Basis Gel. *Journal of Pharmaceutical Science and Herbal Technology*. **1(1)**: 41-44.
- Hardiyanti, Y., Djaswir D., dan A. Santoni. 2013. Ekstraksi dan Uji Antioksidan Senyawa Antosianin dari Daun Miana (*Coleus scutellarioides* L.(Benth)) serta Aplikasi Pada Minuman. *Jurnal Kimia Unand*. **2(2)**: 44-50.
- Mardiatul, U., Aditya, F., dan A.M. Masrumin. 2016. Stabilitas Fisik Dan Aktivitas Antioksidan Sediaan Gel Berbahan Aktif Ekstrak Etanol Daun Miana (*Coleus Antropurpureus* Bent.). *Jurnal Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. **3(2)**: 87-95.
- Maulina, L., dan N. Sugihartini. 2015. Formulasi Gel Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan Variasi Gelling Agent Sebagai Sediaan Luka Bakar. *Jurnal Pharmacia*. **5(1)**: 43-52.
- Muliyawan, D., dan N. Suriana. 2013. *A-Z tentang Kosmetik*. PT Elex Media Komputindo, Jakarta.
- Rahmawanty, D., N. Yulianti, dan M. Fitriana. 2015. Formulasi dan Evaluasi Masker Wajah *Peel-off* Mengandung Kuersetin Dengan Variasi Konsentrasi Gelatin dan Gliserin. *Media Farmasi*. **12(1)**: 17-32.
- Septiani, S.N., Wathoni dan S.R. Mita. 2011. Formulasi Sediaan Masker Antioksidan dari Ekstrak Etanol Biji Melinjo (*Gnetum Gnemon* L.). *Jurnal Unpad*. **1**: 4-24.
- Shovyana, H.H., dan A.K. Zulkarnain. 2013. Stabilitas Fisik Dan Aktivitas Krim W/O Ekstrak Etanolik Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarph*(scheff.) Boerl) Sebagai Tabir Surya. *Traditional Medicine Journal*. **18(2)**:109-117.
- Tranggono, R.I., dan F. Latifah. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Vieira, P.R., Fernandes, R.A., Kaneko, M.T., and R.V. Velasco. 2009. Physical and Physicochemical Stability Evaluation of Cosmetic Formulations Containing Soybean Extract Fermented by *Bifidobacterium animalis*. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. **45(3)**: 515-525.
- Young, B.A. 2002. *Practical Cosmetic Science*. Mills and Boon, London.

A LITERATURE REVIEW: AKTIVITAS IMUNOMODULATOR VITAMIN C**Rima Harsa Atqiya Alquraisi¹⁾, Oktariani Pramiastuti²⁾, Osie Listina³⁾**^{1),2),3)} **Program Studi Farmasi Program Sarjana (S-1) STIKes Bhakti Mandala Husada Slawi**
Email : rimaharsa@gmail.com**Abstract**

WHO (World Health Organization) has made a statement that the coronavirus disease or known as Covid-19, has been declared as a pandemic. The body has self-protection from pathogenic microorganisms, including virus that causes Covid-19, through modulation system. The body's defense system can be activated by providing immunomodulators that can be used to increase an immune response. Vitamin C is one of the vitamins that are often consumed by Indonesian as an effort to improve immune system. Based on the current state of the pandemic, the purpose of this research was to conduct a literature review on the mechanism of action of vitamin C as an immunomodulator and methods used to determine the mechanism of action. Method that used in the preparation of this article by doing some online research using accredited journal sites such as PubMed, Scopus, ProQuest, and Google Scholar. Vitamin C have immunomodulatory activities i.e. immunostimulants, and immunosuppressant.

Keywords: Vitamin C, Immunomodulator**Abstrak**

WHO (World Health Organization) telah membuat pernyataan bahwa penyakit coronavirus atau yang dikenal dengan Covid-19 akhirnya dinyatakan sebagai pandemi. Tubuh dalam melindungi diri dari serangan mikroorganisme patogen termasuk virus penyebab covid-19 melalui sistem modulasi. Sistem pertahanan tubuh dapat diaktifkan dengan memberikan imunomodulator yang dapat digunakan untuk meningkatkan respon imun seseorang. Vitamin C atau yang dikenal dengan asam askorbat merupakan salah satu vitamin yang sering dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia sebagai salah satu upaya untuk meningkatkan sistem imun. Berdasarkan kondisi pandemi covid-19 yang sedang merambah di dunia ini, maka tujuan dilakukannya penelitian adalah untuk melakukan *literature review* tentang mekanisme aksi vitamin C sebagai Imunomodulator dan metode yang digunakan dalam menentukan mekanisme aksi imunomodulator vitamin C. Metode yang digunakan dalam penyusunan artikel ini adalah dengan melakukan proses pencarian secara daring menggunakan situs jurnal yang terakreditasi seperti *PubMed*, *Scopus*, *ProQuest*, dan *Google Scholar*. Vitamin C Sintetik memiliki aktivitas imunomodulator yaitu imunostimulan, dan imunosupresan.

Kata kunci: Vitamin C, Immunomodulator**PENDAHULUAN**

WHO (World Health Organization) telah membuat pernyataan bahwa penyakit corona virus atau yang dikenal dengan covid-19 akhirnya dinyatakan sebagai pandemi (WHO, 2020). Direktur Jendral Tedros Adhanom Ghebreyesus pada tanggal 11 Maret 2020 menyampaikan bahwa ada 114 negara yang melaporkan dan diperoleh 118.000 pasien positif terjangkit virus korona dan 4.291 diantaranya meninggal dunia. Virus covid-19 sangat mudah menular, kecepatan penularannya mendekati virus influenza, tetapi dengan *fatality*

rate yang jauh lebih tinggi walau tidak sampai menyamai SARS. (Krinsky, 2016).

Sistem imun dapat ditingkatkan atau ditekan, salah satunya dengan pemberian imunomodulator (Azimah et al., 2016). Imunomodulator dibagi menjadi 3 kelompok yaitu imunostimulator, berfungsi untuk meningkatkan fungsi dan aktivitas sistem imun, imunoregulator, artinya dapat meregulasi sistem imun, dan immunosupresor yang dapat menghambat atau menekan aktivitas sistem imun (Kumar et al., 2011).

Beberapa senyawa alam memiliki kemampuan dapat meningkatkan aktivitas sistem imun diantaranya golongan flavanoid, kurkumin, limonoid, vitamin C, vitamin E dan katekin (Devagaran & Diantini, 2012). Vitamin C atau yang dikenal dengan asam askorbat (Departemen Kesehatan RI, 1995) merupakan salah satu vitamin yang sering dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia sebagai salah satu upaya untuk meningkatkan sistem imun. Vitamin C merupakan vitamin yang relatif tidak toksik artinya jarang menimbulkan efek samping yang berlebih jika dikonsumsi. Vitamin C secara ekskresi merupakan zat yang mudah diurai (Mann & Truswell, 2014)

Berdasarkan kondisi pandemi covid-19 yang sedang merambah di dunia ini, maka tujuan dilakukannya penelitian adalah untuk melakukan *literature review* tentang mekanisme aksi vitamin C sebagai Imunomodulator dan metode yang digunakan dalam menentukan mekanisme aksi imunomodulator vitamin C.

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam *me-review* artikel ini adalah dengan melakukan proses pencarian secara daring menggunakan beberapa *search engine* seperti PubMed, Scopus, ProQuest dan Schoolar dengan kata kunci : Imunomodulator dan Vitamin C.

Framework yang digunakan dalam penelitian ini adalah PICO. P (*Population*) dalam penelitian ini adalah sel – sel yang mengaktifkan sistem imun. I (*Intervention*) penelitian ini adalah vitamin C. C (*Controlling*) dalam penelitian ini *controlling* atau pembanding tidak digunakan. O (*Outcome*) yang dihasilkan adalah Imunomodulator.

Sumber-sumber yang diperoleh merupakan jurnal-jurnal internasional dan nasional. Jurnal- jurnal dipilih berdasarkan kriteria inklusi yaitu jurnal yang diterbitkan pada 5 tahun terakhir dengan kesesuaian *keyword* penulisan, keterkaitan hasil penulisan dan pembahasan. Sementara, kriteria eksklusi yaitu Jurnal sebagai sumber referensi mengatakan bahwa vitamin C tidak bersifat imunomodulator, dan Jurnal sebagai sumber referensi hanya menampilkan abstrak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari penelusuran sumber jurnal yang masuk kedalam kriteria inklusi adalah sebanyak 4 jurnal. Jurnal – jurnal tersebut membahas tentang aktivitas imunomodulator dari vitamin C dengan metode yang berbeda-beda. Berikut merupakan hasil dari *me-review* jurnal vitamin C yang berfungsi sebagai imunomodulator.

Asal Vitamin C dan Pengaruh Antigen Terhadap Respon Sel Imun

Fokus pembahasan mengenai vitamin C, diketahui bahwa covid-19 disebabkan oleh 2019-coronavirus. Pengaruh pemberian vitamin C pada aktivitas sistem imun dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil *review* empat jurnal mengenai vitamin C terhadap sistem imun menyatakan bahwa semua sampel vitamin C yang digunakan berbentuk suplemen vitamin C. Dua jurnal menyebutkan merk dagang *Sigma-Aldirich* sedangkan dua jurnal lainnya tidak menyebutkan merk vitamin C yang

digunakan. Antigen merupakan bahan yang berinteraksi dengan produk respon imun yang dirangsang oleh imunogen spesifik seperti antibodi dan atau TCR (*T-Cell Reseptor*) (Marliana & Widhyasih, 2018), sedangkan antibodi berarti bahan glikoprotein yang diproduksi sel B sebagai respon terhadap rangsangan imunogen. Pada keempat jurnal masing – masing menggunakan antigen dan pengaktifan sel imun sebagai antibodi yang berbeda.

Tabel 1. Pengaruh Pemberian Vitamin C pada Aktivitas Sistem Imun

N o	Penulis	Asal Vitamin C	Antigen	Sel Imun
1.	Huijskens <i>et al</i> , 2015	Asam askorbat	Sel Kanker (K562)	Sel NK
2.	Ying Cai <i>et al</i> , 2015	Suplemen vit.C merk <i>Sigma-Aldirich</i>	Virus H1N1	IL -6, IL-1 β , dan TNF- α
3.	Zang <i>et al</i> , 2018	Asam askorbat	Lipopolisakarida (LPS)	TNF- α dan IL1 β
4.	Qin <i>et al</i> , 2019	Suplemen vit.C merk <i>Sigma-Aldirich</i>	Plasmodium yoelii 17XL	Sel Th 1

Jurnal pertama yang ditulis oleh Huijskens *et al.* (2015) menggunakan antigen Sel Kanker-K562 (Leukemia) atau sering disebut *Chronic Myelogenous Leukemia* (Pardhasaradhi *et al.*, 2005) akan memengaruhi sel imun *Natural killer* atau sel NK. Sel NK akan aktif dengan cara meng-upregulasi protein kinase C. Sel NK melakukan sitotoksitas terhadap sel tumor tanpa melalui ekspresi antigen tumor bersama molekul MHC kelas I (MHC-*unrestricted manner*). Sel NK dapat melisis sel terinfeksi virus dan *cell line* dari tumor terutama tumor leukemia. Sebagian dari populasi sel NK dapat melisis sel target yang diopsonisasi oleh antibodi, terutama dari kelas IgG karena sel NK memiliki reseptor Fc γ RIII atau CD16 untuk Fc dari IgG. Kapasitas tumorisidal dari sel NK akan ditingkatkan oleh berbagai sitokin,

diantaranya IFN, TNF, IL-2 dan IL-12. Konsep ini diadaptasikan dalam imunoterapi tumor menggunakan LAK (*Lymphokine-activated Killer*), yaitu sel mononuklear perifer yang dikultur secara *in vitro* dengan penambahan IL-2 dosis tinggi (Huijskens *et al.*, 2015).

Jurnal kedua dari Cai *et al.* (2015) menggunakan antigen berupa virus H1N1 atau virus influenza A yang umumnya menyebabkan flu kepada manusia. Virus A merupakan patogen manusia yang paling virulen di antara ketiga tipe influenza dan menimbulkan penyakit paling berat, yang paling terkenal di Indonesia adalah flu babi (H1N1) dan flu burung (H5N1) (Spickler, 2009). Antigen virus H1N1 diinfeksi antibodi yang aktif memengaruhi sel IL -6, IL-1 β , dan TNF- α . Akibat dari replikasi virus H1N1 memicu produksi besar-besaran sitokin proinflamasi (badai sitokin) seperti interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6) dan *tumor necrosis factor* (TNF- α). Sitokin inilah yang masuk ke sirkulasi sistemik dan paru-paru sehingga menyebabkan pneumonia. Vitamin C dapat menekan sitokin pro-inflamasi, seperti IL-1 α , IL-2, IL-8, CRP dan TNF- α (Cai *et al.*, 2015).

Jurnal ketiga yang ditulis oleh Zhang *et al.* (2018) memberikan hasil bahwa antigen yang digunakan berupa Lipopolisakarida (LPS). LPS merupakan faktor patogenik utama pada sepsis gram negatif yang ditandai dengan syok, koagulopati, dan disfungsi multiorgan. Induksi LPS akan menyebabkan aktivitas saraf perifer teraktivasi melalui cedera saraf, mikroglia menjadi aktif dan melepaskan sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , dan IL-6, yang memulai proses nyeri. Selanjutnya, pretreatment vitamin C secara nyata menurunkan kadar malondialdehid (MDA), meningkatkan aktivitas superoksida dismutase (SOD), dan memodulasi rasio Bax / Bcl-2 dan p-p38

Aktivasi MAPK di hipokampus tikus. menunjukkan bahwa vitamin C dapat mengatur fosforilasi MAPK p38 dengan mencegah pembentukan ROS (Lushchak, 2014).

Jurnal yang keempat yang ditulis oleh Qin et al. (2019) menggunakan antigen P. yoelii 17XL yang merupakan parasit yang dapat menyebabkan anemia berat (Waisberg et al., 2012). Sel antibodi yang aktif akibat adanya antigen yaitu Sel Th 1. Mekanisme aksi yang terjadi yaitu sel T akan berproliferasi menjadi T helper (CD4+) dan sel T sitotoksik (CD8+). Sel Th (eritrosit) dalam keadaan tubuh terinfeksi plasmodium akan menerima sinyal dari sel yang terinfeksi parasit tersebut dan kemudian berdiferensiasi menjadi Th1 dan Th2. Sel Th1 akan menghasilkan sitokin IL-2, IFN dan *Tumor Necrosis Factor* (TNF). Interferon dan TNF mengaktifkan makrofag untuk menghambat pertumbuhan parasit melalui stress oksidan sedangkan sel sitotoksik (CD8+) berperan sebagai afektor langsung untuk fagositosis. Limfosit T akan merespon antigen dari plasmodium yang difagosit oleh makrofag yang berikatan dengan molekul MHC kelas II ke permukaan sel. Makrofag akan memproduksi IL-1 yang selanjutnya akan mengaktifkan sel B untuk menghasilkan imunoglobulin yang berperan dalam proses opsonisasi, yang meningkatkan aktivitas fagositosis (Harijanto, 2000).

Perbedaan Metode dan Dosis Aktivitas Imunomodulator

Berbagai metode telah dilakukan untuk pengujian aktivitas imunomodulator vitamin C baik yang diuji secara in vitro maupun secara in vivo. Beberapa metode yang dapat dilakukan dan variasi dosis vitamin C telah dirangkum dalam jurnal ini dan dapat dilihat pada Tabel. 2.

Tabel 2. Perbedaan Metode dan Dosis Aktivitas Imunomodulator

No	Penulis	Probandus	Metode	Dosis
1.	Huijskens et al, 2015	Sel mononuklear darah tepi orang dewasa	Uji Sitotoksik	50mg/mL
2.	Ying Cai et al, 2015	Tikus jantan	Analisis Hispatologi paru-paru	125 dan 250mg/kg
3.	Zhang et al, 2018	Tikus C57BL	Intracerebroventricular injection	10 µg (200 mg/kg)
4.	Qin et al, 2019	Tikus BALB/c	Kultur Splenosit	25mg/kg/hari dan 250mg/kg/hari

Penelitian pertama dilakukan oleh Huijskens et al. (2015) probandus atau bahan yang dijadikan target percobaan berupa sel mononukleat darah tepi orang dewasa yang telah diberikan sel kanker (K562). Sel mononukleat merupakan sel darah putih yang diproduksi oleh jaringan limpatik untuk jenis tidak bergranula yang berfungsi dalam sistem pertahanan tubuh terhadap infeksi (Sutedjo, 2006). Metode yang dilakukan yaitu uji sitotoksik. Salah satu dari uji sitotoksik adalah mengukur kemampuan sel kanker untuk bertahan hidup karena adanya senyawa uji yang diberikan berupa vitamin C dengan dosis 50 mg/mL. Hasilnya bahwa vitamin C dapat membantu sel NK berkembang biak lebih cepat dan dapat digunakan sebagai imunoterapi adopsi untuk penyakit leukemia atau kanker (K562) (Freshney, 1987).

Penelitian kedua dilakukan oleh Cai et al. (2015) menggunakan metode uji hispatologi paru-paru pada hewan uji tikus jantan. Pemeriksaan histopatologi organ paru pada kondisi pneumonia didapatkan infiltrasi sel radang, kerusakan epitel

bronkus, dan produksi sekret yang sangat kental. Parameter untuk mengetahui adanya keparahan pneumonia pada gambaran histopatologi organ paru yaitu kerusakan epitel bronkus (LIPI, 2017). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada dosis oral 125 dan 250mg/kg vitamin C yang diberikan pada tikus jantan dan dilakukan uji hispatologi memberikan hasil bahwa pada bagian paru-paru mencit menunjukkan adanya pneumonia yang merusak substansial dan peradangan parah pada paru-paru tikus yang terinfeksi virus influenza (Li et al., 2012).

Jurnal ketiga Zhang et al. (2018) menggunakan metode Injeksi intracerebroventricular atau disebut injeksi ICV. Injeksi ICV ialah teknik injeksi invasif zat langsung ke dalam cairan serebrospinal di ventrikel serebral untuk melewati sawar darah otak (Cifuentes et al., 2011). Metode injeksi ICV dipilih untuk fokus pada SSP melalui model LPS intracerebroventricular dengan bahan percobaan otak tikus C57BL yang telah diberi antigen LPS. Hasilnya antioksidan vitamin C dengan dosis 10 µg (200 mg/kg) dapat mengurangi neuroin yang diinduksi LPS, apoptosis sel dan gangguan kognitif dengan menghambat sistem ROS, menunjukkan bahwa ROS di SSP berpartisipasi dalam neuroin yang diinduksi LPS (Zhang et al., 2018).

Jurnal penelitian keempat ditulis oleh Qin et al. (2019) memberikan hasil bahwa dosis vitamin C (25mg/kg/hari, 250mg/kg/hari) pada tikus BALB/c yang diinfeksi oleh plasmodium yoelii 17XL dengan metode kultur splenosit akan memengaruhi sel imun Th1. Splenosit merupakan sel dari limpa yaitu tempat dimana terjadi pematangan dan aktivasi sel-sel imun. Splenosit mengandung sel B (~40%), sel T sitotoksik (50%), sel Th (10%) dan sel NK (<5%), oleh karena itu proliferasi pada sel – sel imun yang berada

di organ limpa. Kultur splenosit dan pemberian plasmodium yoelii 17XL sebagai antigen dapat mengaktifkan fagositosis sel imun Th1.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh dapat diambil kesimpulan bahwa vitamin C memiliki aktivitas imunomodulator. Mekanisme aksi vitamin C bersifat imunostimulan dan imunsupresan. Metode yang digunakan untuk mengetahui adanya mekanisme aksi imunomodulator pada vitamin C digunakan metode: uji sitotoksik, analisis hispatologi paru, *Intracerebroventricular injection*, dan kultur splenosit.

DAFTAR PUSTAKA

- Azimah, D., Yuswanto, Wahyono, Sntosa, D., & Setyowati, E. (2016). Efek Imunomodulator Dari Kombinasi Ekstrak Etanol Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees) Dan Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Terhadap Proliferasi Sel Limfosit Mencit Balb/c Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 3(1), 68–75.
- Cai, Y., Li, Y. F., Tang, L. P., Tsoi, B., Chen, M., Chen, H., Chen, X. M., Tan, R. R., Kurihara, H., & He, R. R. (2015). A new mechanism of vitamin C effects on A/FM/1/47(H1N1) virus-induced pneumonia in restraint-stressed mice. *BioMed Research International*, 2015.
- Cifuentes, M., Pérez-Martín, M., Grondona, J. M., López-Ávalos, M. D., Inagaki, N., Granados-Durán, P., Rivera, P., & Fernández-Llebrez, P. (2011). A Comparative Analysis of Intraperitoneal Versus Intracerebroventricular Administration of Bromodeoxyuridine for the Study of Cell Proliferation in the Adult Rat Brain. *Journal of Neuroscience Methods*, 201(2), 307–314.
- Departemen Kesehatan RI. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Departemen Kesehatan RI.
- Devagaran, T., & Diantini, A. (2012). *Senyawa*

- Immunomodulator Dari Tanaman*. 68–70.
- Freshney, R. . (1987). Culture of Animal Cells : A Manual of Basic Technique. *Culture of Animal Cells*, c, 330.
- Harijanto, P. (2000). *Malaria: Epidemio-logi, Patogenesis, Manifestasi Klinis, dan Penanganannya* (1st ed.). EGC, Indonesia.
- Huijskens, M. J. A. J., Walczak, M., Sarkar, S., Atrafi, F., Senden-Gijsbers, B. L. M. G., Tilanus, M. G. J., Bos, G. M. J., Wieten, L., & Germeraad, W. T. V. (2015). Ascorbic Acid Promotes Proliferation of Natural Killer Cell Populations Inculture Systems Applicable for Natural Killer Cell Therapy. *Cytotherapy*, 17(5), 613–620.
- Krinsky, D. L. (2016). Preventive and nonpharmacologic options for colds and influenza. *Pharmacy Today*, 22(11), 16. <https://doi.org/10.1016/j.ptdy.2016.10.007>
- Kumar, A., Dora, J., & Singh, A. (2011). A Review on Spice Of Life Curcuma longa (Turmeric). *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2(4), 371–379.
- Li, Y. F., He, R. R., Tsoi, B., Li, X. Di, Li, W. X., Abe, K., & Kurihara, H. (2012). Anti-stress Effects of Carnosine on Restraint-Evoked Immunocompromise in Mice Through Spleen Lymphocyte Number Maintenance. *PloS One*, 7(4).
- LIPI. (2017). *No Title*. <http://bptba.lipi.go.id/bptba3.1/index.php?lang=en&u=blog-single&p=624>
- Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions*, 224(October), 164–175.
- Mann, J., & Truswell, A. . (2014). Essential of Human nutrition. *Arbeiten Aus Dem Paul-Ehrlich-Institut Dem Georg-Speyer- Haus Und Dem Ferdinand-Blum-Institut Zu Frankfurt Am Main*, NO.75, 71–75. 1
- Marliana, N., & Widhyasih, R. . (2018). *Imunoserologi*.
- Pardhasaradhi, B. V. V., Reddy, M., Ali, A. M., Kumari, A. L., & Khar, A. (2005). Differential Cytotoxic Effects of Annona squamosa seed Extracts on Human Tumour Cell Lines: Role of Reactive Oxygen Species and Glutathione. *Journal of Biosciences*, 30(2), 237–244.
- Qin, X., Liu, J., Du, Y., Li, Y., Zheng, L., Chen, G., & Cao, Y. (2019). Different Doses of Vitamin C Supplementation Enhances the Th1 Immune Response to Early Plasmodium yoelii 17XL Infection in BALB/c mice. *International Immunopharmacology*, 70(77), 387–395.
- Spickler, A. (2009). *Influenza*. <http://www.csfph.iastate.edu/pdfs/influenza.pdf>
- Sutedjo, A. (2006). *Mengenal Penyakit melalui Pemeriksaan Hasil Laboratorium*. Amara Books.
- Waisberg, M., Vickers, B. K., Yager, S. B., Lin, C. K., & Pierce, S. K. (2012). Testing in Mice the Hypothesis That Melanin is Protective in Malaria Infections. *PLoS ONE*, 7(1), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029493>
- WHO. (2020). *Novel Coronavirus (2019-nCoV): Situation report*. World Health Organization. https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019?gclid=Cj0KCQjw16KFBhCgARIsALB0g8KqEOziyeNZQPhON2AT7wX1D0RgQ0sePEDrdzqNcrE0ZwPC7iEDst8aAvpDEALw_wcB
- Zhang, X. Y., Xu, Z. P., Wang, W., Cao, J. B., Fu, Q., Zhao, W. X., Li, Y., Huo, X. L., Zhang, L. M., Li, Y. F., & Mi, W. D. (2018). Vitamin C alleviates LPS-induced cognitive impairment in mice by suppressing neuroinflammation and oxidative stress. *International Immunopharmacology*, 65(October), 438–447.

POTENSI EKSTRAK ETANOL DAUN ANDONG MERAH (*Cordyline fruticosa* (L.) A. Cheval)
SEBAGAI ANTIOKSIDAN PENANGKAL RADIKAL DPPH

Yuri Pratiwi Utami¹

¹Bagian Biologi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Makassar

Email : yuriutami88@gmail.com

Abstract

Andong leaf is one of the traditional medicinal plants that is proven to have various properties including as a (natural) medicinal ingredient. Andong plants contain several chemical compounds including saponins, tannins, flavonoids, polyphenols, steroids. The purpose of this study was to determine the potential of red andong leaf extract (*Cordyline fruticosa* (L.) A. Cheval) as a radical scavenging antioxidant for DPPH. In this study red andong leaves (*Cordyline fruticosa* (L.) A. Cheval) were extracted using maceration method with 70% ethanol as solvent. The results showed that anthocyanins were cyanidin. Antioxidant activity was measured by reducing DPPH free radicals with UV-Vis spectrophotometry at a wavelength of 517 nm. The results showed that red andong red leaf extract had strong antioxidant potential with an IC₅₀ value of 64.5197 g/mL against free radicals DPPH and vitamin C as a comparison showed a very strong antioxidant potential with an IC₅₀ value of 2.12 g/mL.

Keywords : Andong leaf, antioxidant, DPPH

Abstrak

Daun andong merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang terbukti memiliki berbagai khasiat diantaranya sebagai bahan obat (alami). Tanaman andong mengandung beberapa senyawa kimia diantaranya yaitu saponin, tanin, flavonoid, polifenol, Steroida. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak daun andong merah (*Cordyline fruticosa* (L.) A. Cheval) sebagai antioksidan penangkal radikal DPPH. Pada penelitian ini daun andong merah (*Cordyline fruticosa* (L.) A. Cheval) diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Hasil penelitian menunjukkan antosianin jenis sianidin. Aktivitas antioksidan diukur melalui peredaman radikal bebas DPPH dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Hasil Penelitian menunjukkan ekstrak daun andong merah memiliki potensi antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ 64.5197 µg/mL terhadap radikal bebas DPPH dan vitamin C sebagai pembanding menunjukkan potensi antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ 2.12 µg/mL.

Kata Kunci : Daun andong merah, antioksidan, DPPH

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan atom atau senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Senyawa paling berbahaya dalam radikal bebas yaitu hidroksil (OH) sebab memiliki reaktivitas paling tinggi. Molekul tersebut sangat reaktif dalam mencari pasangan elektronnya. Jika sudah terbentuk dalam tubuh, maka akan terjadi reaksi berantai dan menghasilkan radikal bebas baru yang akhirnya membentuk suatu radikal bebas dalam jumlah yang banyak. Radikal bebas secara umum timbul akibat berbagai proses biokimiawi dalam tubuh, berupa hasil samping dari proses oksidasi yang berlangsung pada saat bernafas, metabolisme sel, olahraga yang berlebihan, peradangan, atau saat tubuh terpapar polusi lingkungan seperti asap kendaraan, asap rokok, bahan pencemar dan radiasi matahari (Low dkk, 2007).

Seiring perkembangan zaman sudah banyak digunakan tanaman herbal/tradisional sebagai penangkal radikal bebas, Pada Daun andong merah digunakan sebagai obat diare dan disentri. Daun segar atau bunga kering digunakan dengan cara direbus dengan tiga gelas air sampai air gelas rebusan tersisa satu gelas, setelah dingin, disaring dan dibagi tiga sama banyak, diminum pada pagi, siang dan malam hari. Tanaman andong memiliki daun berwarna merah sehingga berpotensi dimanfaatkan sebagai zat warna atau pigmen alami (Susanto,2014). Kandungan kimia yang mengandung pada daun andong merah yaitu flavonoid, tannin, dan polifenol (Setiawan dalimartha.2006). Antosianin merupakan zat warna yang berperan memberikan warna merah secara alami untuk bahan pangan dan dapat dijadikan alternative pengganti warna sintesis

yang lebih aman bagi kesehatan (Citramukti,2008).

Pada penelitian ini menguji aktivitas antioksidan akar sambiloto dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil*). Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna ungu gelap. Berdasarkan uraian diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi ekstrak etanol daun andong merah sebagai antioksidan penangkal radikal DPPH.. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi sumber informasi dalam penggunaan daun andong merah sebagai antioksidan.

METODE PENELITIAN

Alat-alat yang digunakan yaitu : alat gelas (*Pyrex*®), aluminium foil, incubator (*MEMMERT* ®), labu ukur (*Pyrex*®), neraca analitik (*Mettler Toledo*®), tabung reaksi (*Pyrex*®), pipet tetes, spektrofotometer Visibel (*SHIMADZU*®), dan vial.

Bahan yang di gunakan adalah aquadest, asam sitrat, daun andong merah,aquadest, asam klorida (HCl) pekat, etanol 70 %, etanol p.a, FeCl₃ 1%, natrium asetat (CH₃CO₂Na.3H₂O), kalium klorida (KCl), natrium hidroksida (NaOH), serbuk Mg, pereaksi Dragendrof, pereaksi Meyer, pereaksi Wagner, vitamin C

Penyiapan Simplisia

Pengambilan sampel daun andong merah (*Cordyline fruticosa* (L.) A. Cheval) di Daerah Kabupaten Bone Sulawesi Selatan.

Dilakukan pengambilan bahan baku kemudian dilakukan sortasi basah dan dicuci bersih dengan air mengalir. Selanjutnya dirajang, lalu dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 2 X 24 jam untuk mengurangi kadar air. Kemudian ditimbang dan diremas, Selanjutnya dilakukan ekstraksi.

Pembuatan Ekstrak

Sampel Daun andong merah sebanyak 500 gram dibasahi dengan pelarut etanol 70%, kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 3,750 mL selama 3x24 jam dan diaduk sesekali. Setelah didiamkan, kemudian disaring dan filtratnya ditampung. Kemudian dilakukan remaserasi kembali dengan menggunakan pelarut yang sama hingga jernih. Filtrat hasil maserasi dan remaserasi dicampur dan diuapkan, hingga memperoleh ekstrak kental.

Uji Fitokimia

Identifikasi Alkaloid

Ditimbang ekstrak 1 gram, dilarutkan dengan pelarut etanol 70%, dipipet sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditetesi dengan HCl 2 N, lalu dibagi dalam 3 tabung reaksi. Tiap tabung ditambahkan dengan masing-masing pereaksi. Pada penambahan pereaksi Mayer, positif mengandung alkaloid jika membentuk endapan putih. Pada penambahan pereaksi Wagner, positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan cokelat. Pada penambahan pereaksi Dragendroff, positif mengandung alkaloid terbentuk endapan jingga (Kusumawati, dkk, 2003).

Identifikasi Flavanoid

Ditimbang ekstrak 1 gram, dilarutkan dengan pelarut etanol 70%, dipipet sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan serbuk magnesium 0,1 gram dan 3 tetes HCl pekat. Apabila terbentuk warna jingga sampai merah menunjukkan adanya flavon, merah sampai merah padam menunjukkan flavanol, merah padam sampai merah keunguan menunjukkan flavanon (Kusumawati, dkk, 2003).

Identifikasi Saponin

Ditimbang ekstrak 1 gram, dilarutkan dengan pelarut etanol 70%, dipipet sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 10mL air panas, dinginkan kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik. Positif mengandung saponin jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit dan pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, busa tidak hilang (Depkes RI, 1995).

Identifikasi Triterpenoid

Ditimbang ekstrak 1 gram, dilarutkan dengan pelarut etanol 70%, dipipet sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 2 mL etanol 70% kemudian dikocok, ditambahkan 1 mL kloroform dan 1 mL asetat anhidrida lalu dikeringkan. Setelah kering ditambahkan H₂SO₄. Apabila terbentuk warna kemerahan berarti positif mengandung triterpenoid (Mandal dan Ghasal, 2012).

Identifikasi Tanin

Ditimbang ekstrak 1 gram, dilarutkan dengan pelarut etanol 70%, dipipet sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian dikocok dengan air panas hingga homogen setelah itu ditambahkan FeCl₃, jika menghasilkan biru

karakteristik biru-hitam, berarti mengandung tannin pirogallol. Sedangkan untuk tannin katekol dianggap positif jika ada penambahan larutan FeCl_3 maka akan berwarna hijau atau biru-hijau dan endapan (Kusumawati, dkk, 2003).

Uji pendahuluan antosianin dari ekstrak daun andong merah

Uji warna dengan HCl

Ekstrak daun andong merah sebanyak 50 mg di tambahkan HCl 2 M, kemudian dipanaskan 100°C selama 5 menit (+) merah.

Uji warna dengan NaOH

Ekstrak daun andong merah sebanyak 50 mg ditambahkan NaOH 2 M tetes demitetes sambil di amati perubahan warna yang terjadi (+) hijau biru memudar perlahan-lahan.

Uji aktivitas antioksidan

Pembuatan Larutan DPPH

Ditimbang DPPH sebanyak 7,9 mg kemudian di larutkan menggunakan pelarut etanol p.a sambil dihomogenkan. Pada volume akhir dicukupkan dengan etanol p.a sampai 50 ml dalam labu tentukur

Pembuatan Larutan

Ekstrak daun andong merah dibuatkan Larutan stok 1000 ppm disiapkan dengan cara ditimbang masing-masing 50 mg ekstrak daun andong merah dan di larutkan dengan etanol p.a sambil dihomogenkan, volume akhir di cukupkan dengan etanol p.a sampai 50 ml dalam labu ukur.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Dibuat 5 seri kosentrasi 1000 ppm dengan rentang 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm dari larutan stok ekstrak, selanjutnya masing-masing dibuatkan seri kosentrasi ditambahkan 1 ml larutan DPPH 0,4 mM dan dicukupkan volumenya hingga 5 ml dengan etanol p.a campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dan diukur absorbansinya pada spektrofotometer visible dengan panjang gelombang 517 nm.

Pembuatan Larutan Pembanding Vitamin C

Larutan stok 1000 ppm disiapkan dengan cara ditimbang 50 mg vitamin C dan dilarutkan dengan etanol p.a sambil dihomogenkan, volume dicukupkan pada labu tentukur hingga 50 mL. vitamin C 1000 bpj diencerkan ke dalam 10 ppm dengan cara dipipet 0,1 mL dan dicukupkan dengan etanol p.a sebanyak 10 mL.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Pengujian dilakukan memipet 1 mL larutan vitamin C dari seri kosentrasi 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm, 2,5 ppm, 3 ppm. Kemudian masing-masing ditambahkan 1 mL DPPH, dicukupkan volumenya dengan etanol p.a hingga 5 mL, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Dilakukan replikasi 3 kali untuk tiap kosentrasi sampel.

Presentasi inhibisi yaitu presentasi yang menunjukkan aktivitas radikal tersebut, presentasi inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing kosentrasi larutan sampel dapat dihitung dengan rumus :

$$\frac{\text{Absorban blanko} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban blanko}} \times 100\%$$

Setelah didapatkan presentase inhibisi dari masing-masing kosentrasi sampel dan persen inhibisi yang didapat diplotkan masing-masing pada sumbu x dan y dalam persamaan regresi linear $y = a + bx$. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} dari masing-masing sampel (16).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun andong merah (*Cordyline frutycosa* (L.) A. Cheval). Secara tradisional daun andong merah dimanfaatkan sebagai bahan obat (alami), berkhasiat untuk mengobati radang gusi, diare atau disentri, luka berdarah, wasir berdarah, pendarahan (haemostatik). Secara empiris, daun andong merah digunakan sebagai obat diare dan disentri (Dalimartha, 2006).

Sampel daun andong merah diperoleh dari Kabupaten Bone Provinsi Sulawesi Selatan. Selanjutnya di ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena faktor kerusakan zat aktif lebih kecil. Metode ini tidak menggunakan panas yang dapat merusak zat aktif yang ditarik. Penekanan utama dalam metode ini adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dengan jaringan yang terekstraksi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari (pelarut). Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang menggandung zat aktif (Hanum, 2000).

Pada metode ini sampel di rendam menggunakan pelarut etanol 70 %. Etanol dipilih karena mudah didapat serta merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan senyawa aktif atau

senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam daun andong merah. Berat simplisia dari daun andong merah 500 mg, setelah mengalami pengolahan dan diuapkan didapatkan berat ekstrak 17,07 gram hasil dari maserasi didapatkan ekstrak kental dengan perhitungan persen rendamen sebesar 3,414 %.

Tabel 1. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Andong Merah

Golongan Senyawa Kimia	Hasil Pengamatan	Literatur	Keterangan
Alkaloid (mayer)	Tidak Terjadi pemisahan	Endapan putih	(-)
(wagner)	Tidak Terjadi pemisahan	Endapan coklat	(-)
(dragendorf)	Tidak Terjadi pemisahan	Endapan jingga	(-)
Flavanoid	Berwarna Merah	Merah, jingga dan kuning	(+)
Triterpenoid	Berwarna merah	Biru-hjau (steroid) Merah-ungu (triterpenoid)	(+)
Saponin	Terbentuk Buih	Terbentuk buih	(+)
Tanin	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	(+)

Ket : Positif (+), Negatif (-)

Hasil skrining fitokimia dari ekstrak daun andong merah dengan pelarut etanol 70% dapat dilihat bahwa pada pengujian alkaloid yaitu mayer, wagner, dandragendorf menunjukkan hasil negatif. Pada pengujian flavanoid, triterpenoid, saponin, dan tanin, menunjukkan hasil positif.

Tabel 2. Uji pendahuluan antosianin dari ekstrak daun andong merah

pengujian	Hasil	
	Hasil Penelitian	Menurut Harbone (1987)
Sampel + HCL 2 M dan dipanaskan selama 5 menit pada suhu 100°C	Warna tetap merah	Warna tetap merah
Sampel ditambahkan larutan NaOH 2 M tetes demi tetes.	Warna berubah menjadi hijau dan memudar perlahan-lahan	Warna berubah menjadi hijau biru dan memudar perlahan-

		lahan.
--	--	--------

Uji pendahuluan antosianin dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa antosianin berupa uji warna dengan cara ditimbang ekstrak kental daun andong merah sebanyak 50 mg kemudian ditambahkan HCl 2 M. setelah ditambahkan dengan HCl 2 M, lalu dipanaskan dengan suhu 100°C selama 5 menit dan hasil yang didapatkan ekstrak daun andong merah tidak berubah warna, kemudian dilakukan lagi dengan cara ekstrak ditambahkan NaOH 2 M tetes demi tetes hingga berubah warna dari hijau mudah memudar perlahan-lahan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Yulfriansyah dan Novitriani 2016 menyatakan bahwa penambahan HCl 2 M menghasilkan warna merah, sedangkan pada penambahan NaOH 2 M tetes demi tetes menghasilkan perubahan warna menjadi hijau kekuningan dan memudar perlahan lahan. Jenis antosianin dari ekstrak daun andong merah setelah penambahan HCl 2 M dan NaOH 2 M yaitu sianidin. Menurut jurnal Le Bellec 2006 dan Rifka Hardiyanti 2018 menyatakan bahwa pada penambahan HCl 2 M memeberikan warna merah dan NaOH 2 M memberikan warna hijau biru memudar perlahan-lahan. Secara kimia antosianin merupakan turunan struktur aromatik tunggal, yaitu sianidin, dan semuanya terbentuk dari pigmen sianidin dengan penambahan atau pengurangan gugus hidroksil, metilasi dan glikosilasi (Harborne, 1987).

Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak daun Andong Merah

Pengujian antioksidan ekstrak etanol daun andong merah serta larutan pembanding yaitu vitamin C. Dilakukan konsentrasi 1 ppm, dari larutan induk ekstrak menggunakan metode DPPH yang selanjutnya absorbansinya diukur menggunakan spektrovotometer UV-Vis.

Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH adalah senyawa antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya pada radikal DPPH, sehingga menyebabkan DPPH menjadi bentuk tereduksi yang bersifat nonradikal. DPPH dalam bentuk nonradikal akan kehilangan warna ungu. Pudarnya warna ini ditandai pula dengan penurunan absorbansi DPPH pada panjang gelombang maksimum yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Kumalaningsih sri, 2006).

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol akar sambiloto dengan menggunakan DPPH.

Prinsip dari uji adalah adanya donasi atom hydrogen dari substansi yang diujikan pada radikal DPPH menjadi senyawa non radikal difenil pikril hidrazil yang ditandai dengan adanya perubahan warna. Perubahan warna yang akan terjadi adalah perubahan warna dari larutan berwarna ungu menjadi warna kuning (Molyneux, 2004). Selain itu, pengerjaannya juga mudah, cepat dan sensitif untuk menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak tanaman menggunakan DPPH secara spektrofotometer (Pourmorad, F., *et.al.*,2006) dan metode ini hanya digunakan untuk menguji senyawa-senyawa antioksidan

yang larut dalam pelarut organik khususnya alkohol ((Molyneux, 2004).

Dari nilai absorbansi DPPH yang diperoleh dapat ditentukan nilai persentasi penghambatan radikal DPPH (% inhibisi). Pada nilai % inhibisi dapat ditentukan nilai IC_{50} (*inhibitory concentration*). Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50% yang dapat diperoleh dari persamaan regresi linier. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi (Molyneux, 2004).

Tabel 3. Nilai IC_{50} Ekstrak etanol daun andong merah

Kosentrasi	Replikasi	A	Rata-rata penghambatan	% inhibisi	Nilai IC_{50}	Kategori
Blanko	-	0.847	-	-	-	-
20	1	0.73	0.740333	12.5934 7%	64.5197 μ g/m L	Kuat
	2	0.74				
	3	0.751				
40	1	0.574	0.577333	31.8378 6%		
	2	0.576				
	3	0.582				
60	1	0.393	0.391333	53.7977 2%		
	2	0.391				
	3	0.39				
80	1	0.333	0.333333	60.6454 2%		
	2	0.336				
	3	0.331				
100	1	0.22	0.220333	73.9866 2%		
	2	0.221				
	3	0.22				
Blanko	-	0.847	-	-	-	-

Tabel 4. Nilai IC_{50} Vitamin C

Kosentrasi	Replikasi	A	Rata-rata penghambatan	% inhibisi	Nilai IC_{50}	Kategori
Blanko		0,847	-	-		
1	1	0,660	0,679	18,55%	2.12	Sangat kuat
	2	0,676				
	3	0,693				
1,5	1	0,543	0,557	32,89%		
	2	0,559				
	3	0,569				
2	1	0,460	0,472	43,13%		
	2	0,473				
	3	0,486				
2,5	1	0,350	0,376	54,69%		
	2	0,381				
	3	0,397				
3	1	0,291	0,301	63,73%		

	2	0,301				
	3	0,312				

Nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun andong merah (*Cordyline fruticosa* (L.) A. Cheval) Pada tabel di atas terlihat bahwa nilai IC₅₀ ekstrak daun andong merah didapatkan nilai IC₅₀ 64.5197 µg/mL, Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang diduga terdapat dalam ekstrak mampu meredam aktivitas senyawa radikal bebas dengan kuat. Sedangkan pada vitamin C sebagai pembanding memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat yaitu nilai IC₅₀ 2.12 µg/mL. Sehingga senyawa yang diduga memiliki potensi sebagai antioksidan yaitu golongan flavonoid berupa antosianin. Senyawa antosianin yang merupakan salah satu turunannya yaitu flavanoid. Senyawa antosianin merupakan zat warna yang berperan memberikan warna merah secara alami untuk bahan pangan dan dapat dijadikan alternative pengganti warna sintesis yang lebih aman bagi kesehatan (Citramukti,2008).

KESIMPULAN

Ekstrak daun andong merah berpotensi sebagai antioksidan penangkal radikal DPPH dengan nilai IC₅₀ 64.5197 µg/mL tergolong Antioksidan kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Citramukti, I, 2008, "Ekstraksi dan Uji Kualitas Pigmen Antosianin Pada Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* L) (Kajian Masa Simpan Buah dan Penggunaan Pelarut)", Universitas Muhammadiyah Malang, Malang
- Ghosal, M & Mandal, P. 2012. *Phytochemical Screening and Antioxidant Activities Of Two Selected 'Bihi' Fruits Used As Vegetables In Darjeeling Himalaya. Interantional Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*. ISSN : 0975-1491.4(2)
- Harborne, J. B., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Bandung, ITB.
- Harborne, J.B., (1996). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern techniques of Plant*, Chapman and Hal: London.
- Kusumawati, I., Djatmiko, W., dan Rahman, A. Studiawan, H., Ekasari, W. 2003. *Eksplorasi Keanekaragaman dan Kandungan Kimia Tanaman Obat di Hujan Tropis Gunung Arjuno*. Jurnal Bahan Alam Indonesia, 2(3): 100-104
- Kumalaningsih Sri, 2006. *Antioksidan alami-penangkal radikal bebas, sumber, manfaat, cara penyediaan dan pengolahan*. Trubus Agrisarana. Surabaya.
- Molyneux, P. 2004. The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Songklanarin J, Sci. Technol, 26 (2), 211-219.
- Rahayu, Ayu. 2010. *Pengaruh berbagai variasi suhu dan warna kemasan terhadap stabilitas antosianin kulit manggis (Garcinia Mangostana L.)* skripsi. Fakultas pertanian. Universitas Sebelas Maret. Susanto, dkk. 2014. *Sintesis pigmen alami daun tanaman andong (cordyline fruticosa L.) sebagai pewarna batik dan analisis sifat optiknya*. Universitas Negeri Semarang: Semarang.
- Timberlake, C.F. dan Bridle, P. 1980. *Anthocyanins*. Di dalam Development In Food Colours-1. Walford, J (Ed). 1980. Applied Science Published Ltd. New York.
- Pokorni. 2001. *Antioxidant in Food, Practical Application*. New York : CRS Press.
- Underwood, A.L dan R.A. Day, Jr., 1999, "Analisis Kimia Kuantitatif". Jakarta : Erlangga
- Valle, G.D., Meireles, M.A.A.A., 2005, "Antocianinas en Uva (*Vitis vinifera*) y su Relacion con en Color", Revista de Fitotecnologia, 28(4) : 1221-122

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL AKAR SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* (Burm.F.) Ness.) DENGAN METODE DPPH

Yuri Pratiwi Utami¹

¹Bagian Biologi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Makassar

Email : yuriutami88@gmail.com

Abstract

Antioxidants are compounds that can inhibit free radical reactions in the body. One of Indonesia's traditional medicinal plants that have antioxidant activity is sambiloto (*Andrographis paniculata* (Brum) Ness.). This study aimed to examine the antioxidant activity of the extract of bitter root (*A. paniculata* (Brum) Ness.). The ethanol extract was obtained by extracting the bitter root powder by maceration for 3x24 hours and remaceration for 2x24 hours. The resulting extract is a thick blackish brown extract and has a distinctive odor with a percentage yield of 6.67%. Antioxidant activity was measured by reducing DPPH free radicals with UV-Vis spectrophotometry at a wavelength of 517 nm. The results showed that sambiloto root extract had very strong antioxidant activity with an IC₅₀16,634 g/mL value against DPPH free radicals.

Keywords : Bitter root, antioxidant, DPPH

Abstrak

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh. Salah satu tumbuhan obat tradisional Indonesia yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan adalah sambiloto (*Andrographis paniculata* (Brum) Ness.). Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak akar sambiloto (*A. paniculata* (Brum) Ness.). Ekstrak etanol diperoleh dengan mengekstraksi serbuk akar sambiloto dengan cara maserasi selama 3x24 jam dan dilakukan remaserasi kembali selama 2x24 jam. Ekstrak yang dihasilkan merupakan ekstrak kental berwarna coklat kehitaman dan bau khas dengan persen rendamen sebesar 6,67 %. Aktivitas antioksidan diukur melalui peredaman radikal bebas DPPH dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Hasil Penelitian menunjukkan ekstrak akar sambiloto yang memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀16,634 µg/mL terhadap radikal bebas DPPH.

Kata Kunci : Akar sambiloto, antioksidan, DPPH

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan dengan cara disekitarnya. Sumber radikal bebas eksternal yang berasal dari luar tubuh manusia yaitu merokok, polusi lingkungan, radiasi, bahan kimia, sinar UV, ozon, beberapa jenis obat, pestisida, serta anestesi. Kadar radikal bebas yang berlebihan tersebut menjadi pemicu terjadinya berbagai penyakit dan kondisi degeneratif. Kondisi degeneratif yang dipicu sinar UV terhadap kulit seperti, penuaan dini, kerutan, eritema, kanker kulit, dan lain-lain (1).

Zat antioksidan dapat menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dihambat. Antioksidan dapat bekerja dengan cara mengatasi efek-efek kerusakan pada kulit manusia yang diakibatkan oleh radikal bebas yang merupakan factor utama pada proses penuaan (*aging*) dan kerusakan jaringan kulit(2).

Salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat yaitu tanaman sambiloto(*Andrographis paniculata* (Brum) Ness.). Sambiloto adalah salah satu jenis tanaman yang mengandung senyawa aktif dan sangat potensial untuk dikembangkan sebagai bahan baku obat. Salah satu manfaat sambiloto yaitu memiliki aktivitas sebagai antioksidan (3). Bagian tanaman yang banyak dimanfaatkan dimasyarakat secara empiris yaitu

akar. Kegunaan akar sambiloto yaitu sebagai antimikroba, antifungi, antihipertensi, antiinflamasi, analgesic, antipiretik, dan antialergi (4).

Antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan adalah senyawa flavonoid, fenol, polifenol, kurkuminoid dan tanin (5). Kandungan kimia akar sambiloto diantaranya yaitu senyawa flavanoid (6). Ekstrak akar sambiloto mengandung flavanoid, polimetok-siflavon, androrafi, panikulin, mono-O-metilwithin dan apigenin-7,4 dimetileter yang mempunyai khasiat sebagai antioksidan (7). Isolasi senyawa ekstrak akar sambiloto telah dilakukan dan menghasilkan β -sitosterol, stigmasterol, 5,2'-dihydroxy-7,8-dimethoxyflavone, *trans*-cinnamat, esters rantai panjang dan β -sitosteryl fatty acid esters (8). Senyawa flavanoid yang terkandung dalam tanaman diketahui mampu menghambat terjadinya reaksi oksidasi dengan mekanisme penangkalan radikal dengan cara meyumbangkan satu elektron pada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga mengurangi jumlah radikal bebas (9,10).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Wardatun, 2011 menunjukkan bahwa daya antioksidan terbesar terdapat pada ekstrak akar sambiloto menggunakan metode Linoleat-Tiosianat dengan vitamin E sebagai kontrol positif, pada konsentrasi 0,25% sebesar 79,37% (11). Sedangkan pada penelitian ini menguji aktivitas antioksidan akar sambiloto dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil*). Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna ungu gelap (12). Berdasarkan uraian diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol akar sambiloto (*Andrographis paniculata*(Burm.F.) Ness.) dengan metode DPPH. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi sumber informasi dalam penggunaan akar sambiloto sebagai antioksidan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu gelas kimia, gelas ukur, labu ukur, *rotary Vacum Evaporator* dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu). Bahan yang digunakan yaitu akar sambiloto, aquadest, DPPH (*1,1-Diphenyl-2-*

picrylhydrazyl), etanol 70%, etanol p.a, dan vitamin C.

Penyiapan Simplisia

Sampel akar sambiloto diambil di Pomalaa, Sulawesi Tenggara dan dilakukan determinasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) dengan hasil identifikasi/determinasi yaitu *Andrographis paniculata* (Burm.f) Ness.

Tahapan pengolahan sampel hingga menjadi simplisia yaitu pengumpulan bahan baku, akar sambiloto diambil dengan cara tanaman sambiloto dipotong dengan ukuran tertentu dari bawah permukaan tanah, setelah sampel diambil dilakukan pencucian, kemudian dilakukan sortasi basah, lalu dilakukan perajangan, selanjutnya pengeringan dilakukan dengan panas sinar matahari, kemudian disortai kering. Selanjutnya diserbukkan (13).

Pembuatan Ekstrak

Ekstrak dibuat dengan cara maserasi menggunakan 150 g serbuk akar sambiloto, dimaserasi dengan etanol 70% sebanyak 1 L, menggunakan bejana tertutup sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan selama 3x24 jam, kemudian disaring dengan kertas saring diambi filtratnya, kemudian dilakukan remaserasi 2x24 jam dan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 1 L, sampai filtrat berwarna jernih. Kemudian filtrat dari maserasi dan remaserasi dikumpulkan kemudian diuapkan pelarutnya dengan rotavapor pada suhu 60°C/CC hingga diperoleh ekstrak kental (14,15).

Uji aktivitas antioksidan ekstrak akar sambiloto

Pembuatan Larutan DPPH

DPPH ditimbang sebanyak 0,004 gram, kemudian dilarutkan dalam metanol dan dicukupkan volumenya hingga 25 ml dengan metanol p.a hingga volume 25 mL dalam labu ukur. Larutan stok sebanyak 1.000 ppm disiapkan dengan cara menimbang ekstrak akar sambiloto sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a sambil dihomogenkan lalu dicukupkan volume sampai 10 mL dalam labu ukur (16).

Pembuatan Larutan Ekstrak akar Sambiloto

Larutan stok dibuat sebanyak 1000 ppm, ~~disiapkan~~ dengan cara ditimbang ekstrak akar sambiloto sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a sambil dihomogenkan lalu dicukupkan

volumenya sampai 10 ml dalam labu tentukur (16).

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Akar Sambiloto

Dibuat variasi konsentrasi 5, 15, 25, 35, dan 45 ppm. Tiap konsentrasi dipipet masing-masing 25, 75, 125, 175, dan 225 μL ke dalam labu ukur kemudian ditambahkan 1 mL DPPH, dicukupkan volumenya dengan etanol p.a hingga 5 mL. Campuran dihomogenkan pada suhu 37°C selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Dilakukan replikasi 3 kali untuk tiap konsentrasi sampel (16).

Pembuatan Larutan Pembanding Vitamin C

Larutan stok vitamin C 100 ppm disiapkan dengan cara ditimbang vitamin C sebanyak 1 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a, volume akhir dicukupkan hingga 10 ml dalam labu tentukur.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Dibuat variasi konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Tiap konsentrasi dipipet masing-masing 200 μl , 400 μl , 600 μl , 800 μl , dan 1000 μl kedalam labu tentukur kemudian ditambahkan 1 ml DPPH, dicukupkan volumenya dengan methanol p.a hingga 5 ml. Campuran dihomogenkan pada suhu 37°C selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Dilakukan replikasi 3 kali untuk tiap konsentrasi sampel.

Presentasi inhibisi yaitu presentasi yang menunjukkan aktivitas radikal tersebut, presentasi inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dapat dihitung dengan rumus :

$$\frac{\text{Absorban blanko} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban blanko}} \times 100\%$$

Setelah didapatkan presentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi sampel dan persen inhibisi yang didapat diplotkan masing-masing pada sumbu x dan y dalam persamaan regresi linear $y = a + bx$. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} dari masing-masing sampel (16).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol akar sambiloto sebagai antioksidan. Penelitian ini menggunakan

sampel akar sambiloto yang mengandung flavanoid, polimetok-siflavon, androrafi, panikulin, mono-O-metilwithin dan apigenin-7,4 dimetileter yang mempunyai khasiat sebagai antioksidan (11,17).

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol akar sambiloto dengan menggunakan DPPH. Prinsip dari uji adalah adanya donasi atom hydrogen dari substansi yang diujikan pada radikal DPPH menjadi senyawa non radikal difenil pikril hidrazil yang ditandai dengan adanya perubahan warna. Perubahan warna yang akan terjadi adalah perubahan warna dari larutan berwarna ungu menjadi warna kuning (12). Selain itu, pengerjaannya juga mudah, cepat dan sensitif untuk menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak tanaman menggunakan DPPH secara spektrofotometer (18) dan metode ini hanya digunakan untuk menguji senyawa-senyawa antioksidan yang larut dalam pelarut organik khususnya alkohol (12).

Pengamatan terhadap intensitas warna pada penelitian ini dilakukan pada konsentrasi ekstrak akar sambiloto yang berbeda beda yaitu 5, 15, 25, 35, dan 45 ppm yang bertujuan untuk mengetahui tingkat peredaman warna sebagai akibat adanya senyawa antioksidan yang mampu mengurangi intensitas warna ungu dari DPPH.

Uji aktivitas antioksidan dalam penelitian ini menggunakan parameter IC_{50} (*inhibition concentration*) untuk menginterpretasikan hasil pengujian dengan metode uji menggunakan DPPH. IC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan 50% radikal bebas oleh suatu konsentrasi sampel (ppm) (19). Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol akar sambiloto menggunakan metode DPPH, diperoleh nilai IC_{50} adalah $16,634 \mu\text{g/mL}$ dibandingkan dengan vitamin C sebagai kontrol positif dengan nilai rata-rata IC_{50} adalah $4,731 \mu\text{g/mL}$. Walaupun aktivitasnya lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif vitamin C, namun efeknya tergolong antioksidan sangat kuat. Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh. Jika nilai IC_{50} suatu ekstrak berada < 50 ppm maka aktivitas antioksidannya kategori sangat kuat, semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan (12). Hasil pengujian aktivitas vitamin C terlampir pada tabel.

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol akar sambiloto termasuk kategori sangat kuat. Hal ini diduga karena kandungan senyawa yang terkandung dalam tanaman tersebut berupa flavanoid. Pernyataan ini dipertegas oleh penelitian Sandrasari (2008) (20), senyawa fenolik berupa flavonoid dapat berperan sebagai antioksidan. Aktivitas flavonoid sangat bergantung terhadap jumlah dan lokasi gugus – OH dimana dalam hal ini berperan dalam menetralkan radikal bebas. Kemampuan flavonoid dalam menekan radikal bebas pun berkaitan dengan kemampuannya mendonorkan elektron.

KESIMPULAN

Ekstrak akar sambiloto memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} yaitu $16,634 \mu\text{g/mL}$ tergolong antioksidan sangat kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Winarsi, H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Muliawati, E.S. 2002. Kajian Tingkat Serapan Hara, Pertumbuhan dan Produksi Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) pada Beberapa Komposisi Media Tanam dan Tingkat Penyiraman. Prosiding Simposium Nasional II Tumbuhan Obat dan Aromatik APINMAP. Bogor.
- Widyawati, Tri. 2007. "Aspek Farmakologi Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness)." Majalah Kedokteran Nusantara Volume 40 Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
- Leswara, D. dan N. Katrin. 1998. Perbandingan Daya Antioksidan Beberapa Jenis Benalu Menggunakan Metode Spektrofotometri. Warta Tumbuhan Obat. Jakarta. Vol 4. Hal 10-12.
- Yuniarti, T. 2008. Ensiklopedia Tanaman Obat Tradisional, Cetakan Pertama MedPress, Yogyakarta.
- Prapanza, E. & Mariantio, L.M. 2003. Khasiat & Manfaat Sambiloto: Raja Pahit Penakluk Aneka Penyakit. Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Tan, M.C., Oyong, G.G., Shen, C.C. dan Ragansa, C.Y., 2016. Chemical Constituents of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research 8(8); 1398-1402. www.ijppr.com
- Pokorny, J., N. Yanishleva, and M. Gordon. 2001. Antioxidant in Food. Woodhead Publishing Ltd. England.
- Wardatun Sri. 2011. "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Akar Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) Dengan Metode Linoleat – Tiosianat". Bogor : Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Pakuan.
- Molyneux, P., 2004, The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioksidan Activity, Songklanakarin J. Sci. Technol.
- Marinova G dan Batchvarov V., 2011, "Evaluation of Methods for Determination of The Free Radical Scavenging Activity by DPPH", Bulgarian Journal of Agricultural Science, 17 (No 1), 11-24, Institute of Cryobiology and Food Technologies, BG – 1407 Sofia, Bulgaria..

Review Artikel : Aktivitas Antikanker dari Spons Laut Genus Xestospongia**Adryan Fristiohady¹, Prahedi Setya Ibrahim¹, Asniar Pascayantri¹****¹Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo, Kendari, Indonesia.**Email: adryanfristiohady@uho.ac.id**Abstract**

The discovery of novel agents in the treatment of cancer is still being conducted, one of them is by developing the marine natural resources as an anti-cancer drug. Sponges like the genus Xestospongia, are natural marine resources that have potential as anti-cancer. Thus,, this review aims to showing the potential of the genus Xestospongia as an anticancer. This review was carried out by collecting the literature from various databases from 2014 to 2019. Results obtained that marin sponge Xestospongia, including Xestospongia testudinaria, Xestospongia exigua, Xestospongia muta and Xestospongiawiedemayeri, were used as anticancer. These compounds such as Quinolizidine, Aragusterol, Araguspic and many more.

Keywords— Xestospongia, anticancer, cytotoxicity**Abstrak**

Penemuan obat baru dalam pengobatan kanker masih intensif dilakukan, salah satunya dengan pengembangan sumber daya alam laut sebagai obat anti kanker. Spons seperti genus Xestospongia, merupakan sumber daya alam laut yang memiliki potensi sebagai anti kanker. Oleh karena itu, review ini bertujuan untuk menunjukkan potensispons genus Xestospongia sebagai antikanker. Review ini dilakukan dengan mengumpulkan pustaka dari berbagai database dari tahun 2014 hingga 2019. Hasil yang didapatkan bahwa spesies dari Xestospongia seperti Xestospongia testudinaria, Xestospongia exigua, Xestospongia muta dan Xestospongia wiedemayeri tercatat berpotensi sebagai antikanker. Senyawa-senyawa tersebut seperti Quinolizidine, Aragusterol, Araguspic dan masih banyak lagi.

Kata Kunci— Xestospongia, antikanker, sitotoksitas**PENDAHULUAN**

Di tahun 2018, kanker merupakan penyebab kematian pada lebih dari 65.000 dengan kanker paru dan payudara yang paling sering terdiagnosis hampir ditiap negara di dunia (Khalifa *et al.*, 2019). Di Indonesia itu sendiri di tahun 2018, terdapat total kasus kanker sebesar 348.809 jiwa dengan total kematian yaitu sebesar 207.210 jiwa. Urutan teratas yakni kanker payudara dengan angka kejadian kanker sebesar 16,7% dan angka kematian sebesar 11,0 %, sementara kanker paru masuk dalam urutan ke-6 dengan angka kejadian kanker sebesar 8,6 % dan angka kematian sebesar 12,6 % (Cancer Country Profile, 2020).

Adanya pembatasan dalam penggunaan agen kemoterapi dalam mengatasi kanker yang diakibatkan oleh tingginya tingkat toksisitas dan resistensi tumor terhadap obat kemoterapi setelah terapi lanjutan masih tidak dapat dihindari. Oleh karena itu, sangat penting untuk terus mencari obat baruyang meningkatkan atau mempertahankan kemanjuran, sekaligus meminimalkan toksisitas dan menunda pengembangan resistensi obat. Salah satu alternatif adalah dengan pencarian senyawa obat baru yang berasal dari spons (Tun *et al.*, 2019).

Tercatat hampir 5000 senyawa telah diisolasi dari spons dan berefek sebagai antikanker (Swantara *et al.*, 2019). Salah satu jenis spons yang berpotensi sebagai sumber dari senyawa yang bersifat antikanker adalah spons yang berasal dari genus Xestospongia. Sehingga review ini menyajikan beberapa bukti potensi antikanker spons genus Xestospongia beserta penjelasan tambahan mengenai bahan aktif yang berpotensi sebagai antikanker tersebut.

METODE PENELITIAN

Informasi yang dijadikan data dalam penulisan review jurnal ini dikumpulkan menggunakan metode studi pustaka. Pencarian pustaka dilakukan menggunakan instrumen pencarian berbasis online seperti NCBI-PubMed, Google Scholar, dan Elsevier. Kata kunci yang digunakan untuk penelusuran pustaka terkait dengan “Xestospongia” dan “anticancer of Xestospongia”. Pustaka yang sudah didapat kemudian dikumpulkan informasi yang diperlukan, disusun sesuai kerangka, data spons genus Xestospongia dengan aktivitas antikanker disusun dalam bentuk tabel, dan penulisan review jurnaldilakukansesuai format yang diberikan. Dari hasil studi literatur diperoleh 27 jurnal terbitan

2014 – 2020 yang memuat informasi mengenai spons laut genus *Xestospongia* dengan aktivitas antikanker yang akan ditampilkan pada tabel 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Potensi spons sebagai antikanker

Spons berpotensi sebagai antikanker dengan berbagai macam mekanisme yaitu proapoptosis atau menginduksi apoptosis, anti-inflamasi, anti-metastasis, sitotoksik, dan sebagai antioksidan (Calcabrini *et al.*, 2017; Trianto *et al.*, 2016).

Salah satu jenis spons yang bermanfaat dan banyak diteliti terkait potensinya sebagai antikanker adalah spons yang berasal dari genus *Xestospongia*. Berikut merupakan kandungan metabolit yang terkandung di dalam genus ini yang berpotensi sebagai antikanker (tabel 1).

Tabel I. Aktivitas antikanker dari genus *xestospongia*

No	Spesies Spons	Metabolit	Aktivitas Antikanker (Lini sel)	Sumber
1.	<i>Xestospongia testudinaria</i>	1. Sapi nofuranone 2. asam xestospongic 3. 24-hydroperoxy-24-vinyl-kolestero 4. Sarin gosterol 29 – hydroperoxy stigmasta-5,24 – dien-3β – ol	1. S eviks Cancer (HeLa) 2. H epar Cancer (HepG-2), 3. K anker Otak (Daoy).	Swantara <i>et al.</i> , 2019; El Gamal <i>et al.</i> , 2016.
		Langcoesterol A	1. S eviks Cancer (HeLa) 2. K anker Payudara (MCF-7 sel) 3. F ibroblas cancer (WI 38)	Nguyen <i>et al.</i> , 2019
2.	<i>Xestospongia</i>	Neo-	Kanker	Hudayah

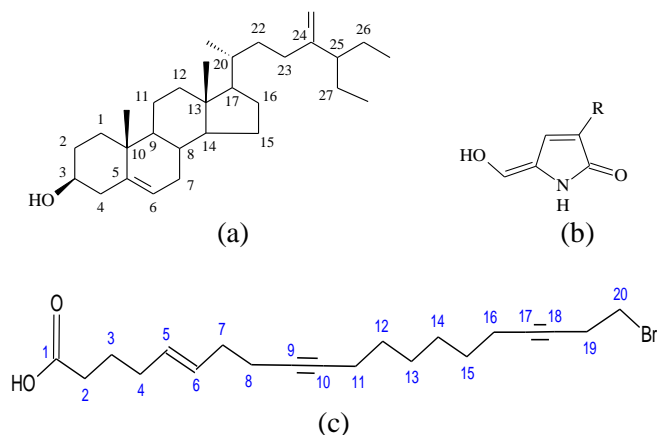
ngia sp.	kauluamine	Payudara (MCF-7)	<i>et al.</i> , 2017
	N-Methylniphyat yne A	Kanker Pankreas (PANC – 1)	Arai <i>et al.</i> , 2016
	1. Hale naquinole Sulfate, 2. Xest osaprol C 3. Meth ylacetal 4. Adoc aclaquino 5. Seco adociaquino	Osteoblas (CDK9, DYRK1, CDK5)	He <i>et al.</i> , 2015
	1. Reni eramycin M dan analognya hydroquinone 5-O-monoester 2. Arag usterol A	1. K anker Payudara (MCF-7, MB-435) 2. L ung Cancer (H460, QC56, H292) 3. K anker usus (HCT116)	Tun <i>et al.</i> , 2019; Sirimangka lakitti <i>et al.</i> , 2017; Maiuthed <i>et al.</i> , 2017 Chamni <i>et al.</i> , 2017; Sirimangka lakitti <i>et al.</i> , 2016; Calcabrini <i>et al.</i> , 2017
	1. Reni eramycins T 2. 5-O-acetyl renieramycin T	1. K anker payudara (T47D) 2. K anker usus besar (HCT11, DLD1) 3. K anker paru-paru (QG56, H460,	Petsri <i>et al.</i> , 2019 Ye <i>et al.</i> , 2015; Chantarawong, <i>et al.</i> , 2019

			H292) 4. Kanker pankreas (AsPC1) 5. Kanker prostat (DU145)							Kumar, 2020
			β -karbolin chalcones	Kanker Payudara (MCF-7)	Reddy <i>et al.</i> , 2018					
			Araguspongi ne C	Kanker Payudara (BT-474)	Wargaseti <i>et al.</i> , 2019; Zhou <i>et al.</i> , 2018					
			Stigmasterol	Kanker limfosit (K562)	Nazemi <i>et al.</i> , 2020					
			1. Adociaquinones AB 2. Xestocoquinones 3. Neoaemphimedne	Kanker Payudara (MDA-MB-435, HCT-116)	Concepcion <i>et al.</i> , 2014					
			Xestoaminol C	1. Lung Cancer (A-549) 2. Colon Cancer (HT-29) 3. Melanom (MeL-28) 4. Prostat Cancer (DU-145) 5. Glioma (SHG-44)	1. L Fabišíkov <i>á et al.</i> , 2016 2. C 3. M 4. P 5. G					
			1. Xestobergsterol	LTB4	Chaudharian					
		A	2. Xestobergsterol B							
			3. <i>Xestospongia exigua</i>	1. Xestospongins 2. Xestospongins B	1. Kanker payudara (BT-474) 2. Neuroblastom (NG108-15)					Aki <i>et al.</i> , 2015 Ruocco <i>et al.</i> , 2016
				Araguspongi ne C	Kanker Payudara (MDA-MB-231, MCF-7 T-47D, HER-2)					
			4. <i>Xestospongia muta</i>	Quinolizidine	1. Kanker Payudara (MCF-7) 2. Kanker Hati (HepG-2) 3. Kanker Leukimia (HL-60) 4. Kanker Paru (LU-1) 5. Kanker Kulit (SK-Mel-2)					Dung <i>et al.</i> , 2019
			5. <i>Xestospongia wiedemayeri</i>	Drimenyl fenol	1. Kanker Usus 2. Kanker Payudara					Carraso <i>et al.</i> , 2014

B. Potensi antikanker spons genus xestospongia

1. *Xestospongia testudinaria*

Xestospongia testudinaria menjadi sumber alkaloid indol, sterol, sterolester, dan asam lemak tak jenuh (El Gamal *et al.*, 2016).



Gambar 1. struktur senyawa sterol (a) alkaloid (b) dan asam lemak tak jenuh(c) (El Gamal *et al.*, 2016)

Ekstrak metanol X. *Testudinaria* dari Baliberpotensi antikanker terhadap sel HeLa dengan IC₅₀ yakni 1327 ppm serta LC₅₀ yaitu 31,62 ppm (toksik). Ekstrak kloroformnya adalah yang paling toksik dengan Nilai LC₅₀ 39,81 ppm. Fraksi yang paling beracun dengan LC₅₀ yaitu 44,67 ppm (<1000 ppm, sehingga dilanjutkan ke uji terhadap sel HeLa sebagai uji antikanker) dengan uji MTT (Microtetrazolium) untuk mengukur proliferasi sel berdasarkan pengurangan garam tetrazolium kuning MTT, yang direduksi menjadi kristal formazan ungu oleh mitokondria (Swantara *et al.*, 2019).

Pada penelitian El Gamal (2016), aktivitas antikanker (IC₅₀ = 2,273 ppm) dari isolat toksik X. *testudinaria* dengan ekstrak etanol X. *testudinaria* pada HeLa, HepG-2, dan sel Daoy adalah masing-masing 83,35 ; 23,45 dan 23,31 ppm. Selain itu, n-EH dari spons sama memiliki nilai IC₅₀ 33,7 ; 30,2, dan 20,74 ppm masing-masing di sel HeLa, HepG-2, dan Daoy. Ini bisa menjadi bahan perbandingan dalam hal memilih jenis pelarut untuk ekstraksi sampel.

2. *Xestospongia sp.*

Agar lebih jelas beberapa senyawa aktif potensial antikanker dalam pembahasan per poin *Xestospongia sp.* yakni sebagai berikut :

2.1. Neo-Kauluamine

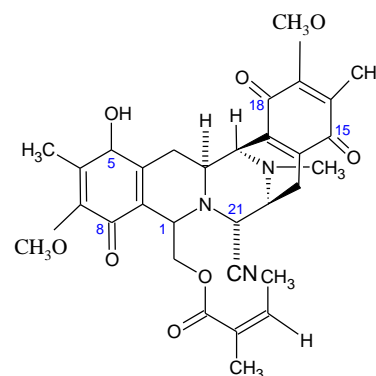
Senyawa Neo-Kauluamine dari ekstrak metanol *Xestospongia sp.* secara signifikan menghambat pertumbuhan sel MCF-7 konsentrasi 0,391 µg/ml > 24 jam dan 0,781 µg/ml > 48 dan 72 jam. Kesimpulan hasil

ekstrak menghambat pada 100 µg/ml dengan IC₅₀ yaitu 97,72 µg/ml (72 jam) (Hudayah *et al.*, 2017).

2.2. Renieramycin M (RM) dan analognya hydroquinone 5-O-monoester

Renieramycin M (RM) adalah contoh tetrahydroisoquinoline yang distabilkan dengan KCN murni. Efek kombinasinya dengan DOX pada MCF-7 berefek pada siklus sel, apoptosis, dan transkriptome. Nilai IC₅₀ kombinasi < 1 µM menandakan sinergisme, IC₅₀ mendekati 1 nilai menandakan signifikansi, IC₅₀ > 1 µM menandakan antagonisme (Tun *et al.*, 2019)

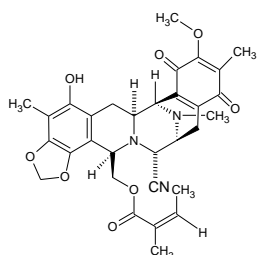
RM memiliki aktivitas antimetastatik dan menekan sel-sel induk kanker (Maiuthed *et al.*, 2017). IC₅₀ RMyakni 0,01-0,10 µM terhadap sel H460 (Sirimangkalakitti *et al.*, 2017) IC₅₀ 1.1-1.6 µM (Sirimangkalakitti *et al.*, 2016) 0,5-2,5 µM dalam mengurangi tingkat protein (Calcabrini *et al.*, 2017).



Gambar 2 . Struktur senyawa Renieramycin M (Tun *et al.*, 2019)

Hydroquinone 5-O-monoester analog dari Renieramycin M memberikan antiproliferasi sekitar 8-10 kali lipat peningkatan sitotoksitas terhadap metastasis lini sel H292 (Kanker Paru) (Chamni *et al.*, 2017).

2.3. Renieramycin T

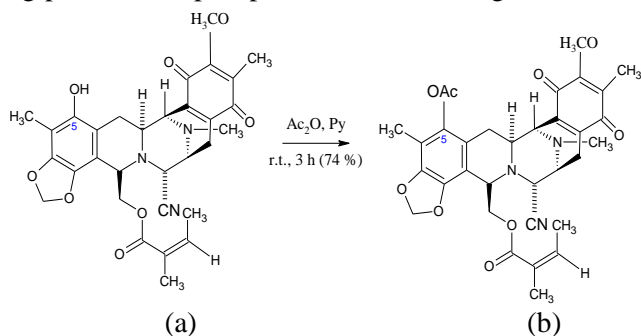


Gambar 3. Struktur senyawa Renieramycin T (Chantarawong *et al.*, 2019)

Renieramycin T (RT) memiliki cincin aromatik dengan nilai IC₅₀ mulai dari 4,7 hingga 98 nM (Ye *et al.*, 2015). RT dengan menginduksi degradasi Mcl-1 dalam sel kanker paru-paru yang mana waktu paruh Mcl-1 secara dramatis diperpendek (paruh Mcl-1 untuk 1 μ M RT adalah 1,52 jam dibanding 3,44 jam) kemudian pembentukan kompleks meningkat secara dramatis dan kematian sel dimediasi dengan menargetkan degradasi Mcl-1 (Petsri *et al.*, 2019).

2.4. 5-O-acetyl renieramycin T

Renieramycins A–Y adalah alkaloid tetrahydroisoquinoline. Penambahan asetil dengan esterifikasi gugus fenol menghasilkan 5-O-acetyl renieramycin T. Nilai IC₅₀ kisaran 0,66 μ M (H292), 33,24 μ M (A549) dan 33,77 μ M (H23) dengan cara menginduksi apoptosis, menekan CSC, dan sel H292 yang peka terhadap cisplatin (Chantarawong *et al.*, 2019).



Gambar 4. Struktur Senyawa Renieramycin T (a) menjadi 5-O Acetyl Renieramycin T (b) (Chantarawong *et al.*, 2019)

2.5. N-Methylniphatyne A

Senyawa N-methylniphatyne A dari *Xestospongia* sp. dengan sistem ujiantikankeryang disesuaikan dengan kebutuhan nutrisi yang memanfaatkan media kultur yang kekurangan glukosa memiliki potensi antikanker dengan nilai IC₅₀ yang dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel II. IC₅₀ N-Methylniphatyne A pada sel PANC-1 (Arai *et al.*, 2016)

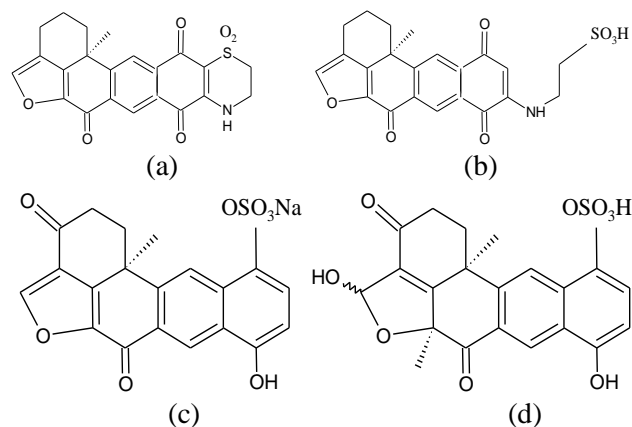
	IC ₅₀ (μ M)	
	Glukosa	Glukosa

	(-)	(+)
N-Methylniphatin A Alami	16	>100
N-Methylniphatin A Sintesis	17	>100
Analogue 6	18	>100
Analogue 7	8,8	>100

Keterangan : Analog 6 < analog 7 menunjukkan bahwa posisi bagian alkunatidak penting untuk aktivitas sitotoksik

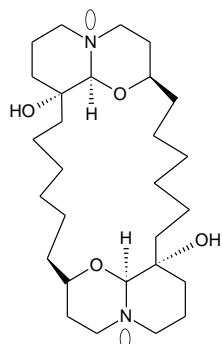
2.6. Halenaquinole sulfate, xestosaprol C methylacetal, adoclaquinone B dan secoadociaquinone B

Adoclaquinone B dan Secoadociaquinone B masing-masing menghambat secara selektif terhadap CDK9/cyclin T (IC₅₀: 3 μ M) dan CDK5 / p25 (IC₅₀: 6 μ M). Halequaninol Sulfate menunjukkan aktivitas yang signifikan terhadap sebagian besar protein kinase mulai dari 0,5 hingga 7,5 μ M. Sementara Xestoposaprol C Methylacetal menunjukkan aktivitas marginal terhadap DYRK1A (9,3 μ M) (He *et al.*, 2015).



Gambar 5. Struktur senyawa Adoclaquinone B (a) Secoadociaquinone B (b) Halequaninol sulfate (c) dan Xestoposaprol C methylacetal (d) (He *et al.*, 2015)

2.7. Araguspongine C



Gambar 6. Struktur Senyawa Araguspongine C (Aki *et al.*, 2015).

Araguspongine C merupakan alkaloid tipe macrocyclic oxaquinolizidine dengan potensi autophagic sel BT-474 melalui penekanan PI3K /Akt/ pensinyalan mTOR, dari interaksi langsung antara araguspongine C dan HER2 receptor (Zhou *et al.*, 2018). Ditunjukkan oleh pembentukan autophagosome dan peningkatan regulasi Atg3, Atg7, Atg16L, dan LC3A / B. Araguspongine C juga menghambat proliferasi beberapa lini sel kanker payudara dalam manne tergantung dosis (Wargasetia *et al.*, 2019).

2.8. β -Karbolin Chalcones dan Stimasterol

β -karbolin chalcones adalah keton aromatik dengan IC₅₀ yaitu 2,25 μ M terhadap MCF-7 (Reddy *et al.*, 2018). Sedangkan stigmasterol yang merupakan golongan sterol memiliki IC₅₀ terhadap sel kanker limfosit (K562) yaitu 18/3 hingga 34/3 μ g/ml (Nazemi *et al.*, 2020).

2.9. Adociaquinon, xestoquinon dan neoamphimedine

Adociaquinon adalah alkaloid hasil sintesis dari xestoquinon yang menunjukkan IC₅₀ terhadap sel HCT-116 masing-masing 24 dan 21 μ M. Neoamphimedine juga alkaloid yang menunjukkan sitotoksitas signifikan terhadap sel HCT-116 dan sel KB dibandingkan amfimedine. Neoamphimedine sebanding dengan etoposide dalam mengurangi ukuran xenografts tumor dari sel lini kanker HCT-116 dan lini sel kanker nasofaring (Concepcion *et al.*, 2014).

2.10. Aragusterol A

Aragusterol A adalah steroid untuk menghambat pertumbuhan sel kanker yang resisten terhadap cisplatin dan doxorubicin. Misalnya, IC₅₀ cisplatin yang resisten adalah 30,3 μ M (dibandingkan 0,18 μ M dalam sel yang peka); IC₅₀ aragusterol A adalah 0,18 μ M (dibandingkan 0,42 μ M dalam sel yang peka). IC₅₀ doxorubicin dalam sel leukemia resisten terhadap doxorubicin adalah 5,05 μ M (dibandingkan 0,10 μ M dalam sel yang peka); IC₅₀

aragusterol A adalah 0,73 μ M (dibandingkan 0,12 μ M dalam sel induknya) (Calcabrini *et al.*, 2017).

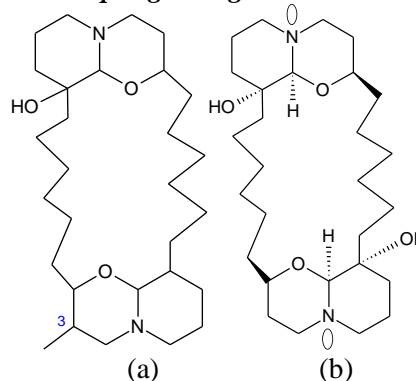
2.11. Xestoaminol C

Xestoaminol C merupakan amina alkohol yang menunjukkan aktivitas melawan reverse transcriptase dan juga potensi sitotoksik/antiproliferatif yang luar biasa pada beberapa sel kanker manusia seperti A-549, HT-29, MeL-28, DU-145 dan SHG-44 (Fabišková *et al.*, 2016).

2.12. Xestobergsterol A dan xestobergsterol B

Xestobergsterol A dan xestobergsterol B keduanya ialah golongan sterol yang menghambat fosfolipase A2 dan menghambat mediator inflamasi seperti NF- κ B. Verifikasi Xestospongia carbonaria memungkinkan sifat sitotoksik. Xestospongia testudinaria menekan produksi mediator leukotriene B4 (LTB4), yang merupakan indikator permeabilitas vaskular (Chaudhari dan Kumar, 2020).

3. Xestospongia exigua

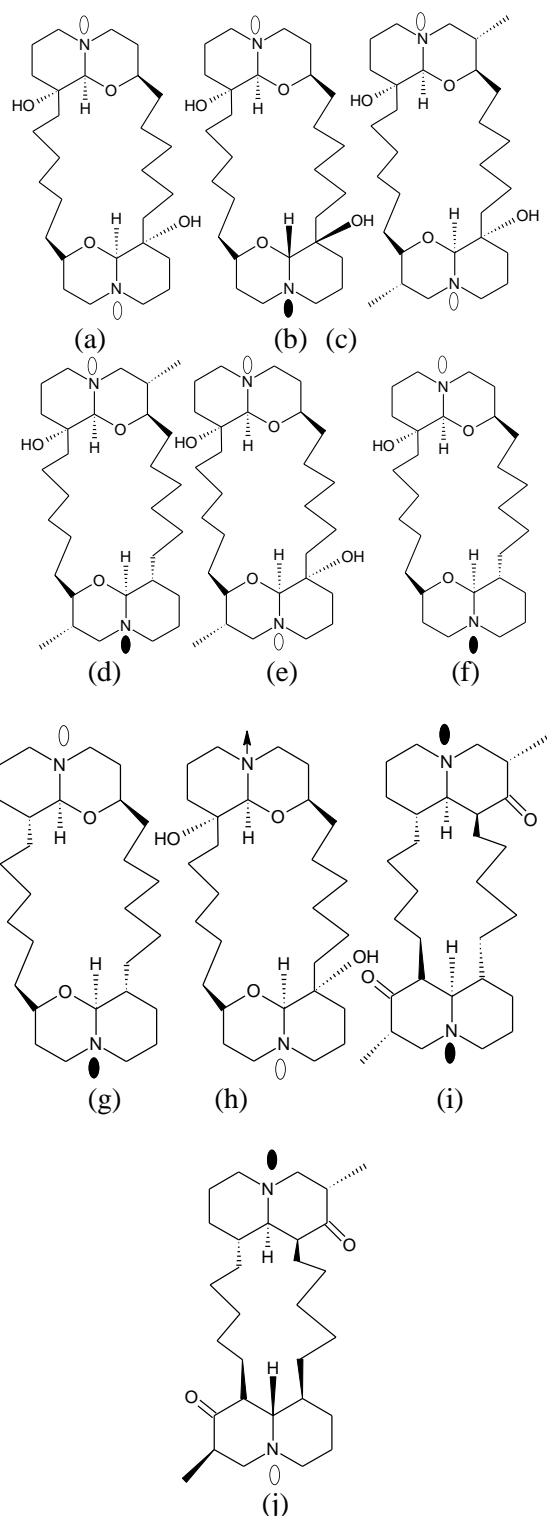


Gambar 7. Struktur senyawa xestospongins (a) dan araguspongine C (b) (Aki *et al.*, 2015)

Secara kimia, xestospongins/araguspongine adalah dimeric 2,9-disubstitusi 1-oxaquinolizidines. IC₅₀ araguspongine A dan araguspongine C terhadap BT-474 masing-masing 9,3 dan 15,2 μ M (Aki *et al.*, 2015). Xestospongi B menginduksi autophagy melalui inositol triphosphate, antagonis reseptor pada sel neuroblastoma. Araguspongine C menghambat proliferasi beberapa lini sel kanker payudara secara in vitro tergantung dosis. Induksi ditandai dengan pembentukan vakuola dan upregulation dari penanda autofagy (Ruocco *et al.*, 2016).

4. Xestospongia muta

Quinolizidine adalah kumpulan alkaloid turunan L-lysine. Dibentuk oleh penambahan makrosiklik dua quinolizidine atau 1-oxaquinolizidine moieties, disebut bis-QA menunjukkan potensi seperti sitotoksitas.



Gambar 8. Struktur Senyawa araguspongines C(a) meso-araguspongine C(b) araguspongines N-P (c-e) araguspongine A(f) araguspongine E (g) araguspongine (h) petrosin(i) dan petrosin A (j) (Dung *et al.*, 2019)

Tabel III. Ringkasan IC₅₀ tiap bis-QA terhadap beberapa lini sel kanker (Dung *et al.*, 2019)

Lini Sel	IC ₅₀ (μM) Rendah
HepG-2	0,43
HL-60	0,62
LU-1	0,76
MCF-7	0,44
SK-Mel2	0,77

Kesimpulan :
Nilai IC₅₀ Tertinggi : petrosin dan petrosin A dengan rata-rata > 50 μM
Nilai IC₅₀ Terendah : semua dari meso-araguspongine C

5. *Xestospongia wiedemayeri*

Drimenyl fenol merupakan campuran biosintesis (polyketideeterpenoid) yang mengandung unit seskiterpen yang bergabung dengan fenolik menghambat kolesterol transfer protein (CETP) ester wiewendiol A dan wiewendiol B.

Tabel IV. IC₅₀ dari 13 dan 15-Fluorouracil (Carraso *et al.*, 2014).

	Lini Sel	13	15-Fu
		IC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)
Kanker Payudara	MCF-7	0,35	2,86
	MDA-MB-231	0,46	18,12
	T-47D	0,63	10,56
	E0771	0,39	0,28
	MCF-10A	3,15	8,06
Kanker Paru	T-84	0,56	3,35
	HT-29	1,97	2,58
	RKO	0,59	4,39
	SW-480	0,92	3,69
	CCD18Co	0,33	9,26

KESIMPULAN

Spons umumnya mengandung komponen utama meliputi alkaloid, sterol, poliketida dan sebagainya yang terus dikembangkan terkhusus genus *Xestospongia* dengan aktivitas antikanker yang berbeda-beda konsentrasinya begitupun selektivitasnya terhadap lini sel kanker

DAFTAR PUSTAKA

- Akl, M. R., Ayoub, N. M., Ebrahim, H. Y., Mohyeldin, M. M., Orabi, K. Y., Foudah, A. I., & Sayed, K. A. E., 2015, Araguspogine C induces autophagic death in breast cancer cells through suppression of c-met and HER2 receptor tyrosine kinase signalling, *Marine Drugs*, Vol. 13, No.1 : 288-311. doi: <https://doi.org/10.3390/md13010288>
- Arai, M., Kamiya, K., Shin, D., Matsumoto, H., Hisa, T., Setiawan, A., & Kobayashi, M., 2016, N-Methylpiperidine A, A new 3-Alkylpyridine alkaloid as an inhibitor of the cancer cells adapted to nutrient starvation, from an Indonesian marine sponges of *Xestospongia* sp., *Chemical And Pharmaceutical Bulletin*, Vol. 64, No.7 : 766-771. doi : 10.1248/cpb.c16-00118
- Calcabrini, C., Catanzaro, E., Bishayee, A., Turrini, E., & Fimognari, C., 2017, Marine sponges natural products with anticancer potential: an updated review. *Marine Drugs*, Vol. 15, No.10 : 310. doi : <https://doi.org/10.3390/md15100310>
- Cancer Country Profile, 2020, Burden of cancer Indonesia. https://www.who.int/cancer/country-profiles/IDN_2020.pdf?ua=1 (diakses 28 Juli 2020)
- Carrasco, E., Álvarez, P. J., Melguizo, C., Prados, J., Alvarez-Manzaneda, E., Chahboun, R., & Rodriguez-Serrano, F., 2014, Novel merosquiterpene exerts a potent antitumor activity against breast cancer cells in vitro and in vivo, *European Journal Of Medicinal Chemistry*, Vol.79 : 1-12. doi : <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.03.071>
- Chamni, S., Sirimangkalakitti, N., Chanvorachote, P., Saito, N., & Suwanborirux, K., 2017, Chemistry of renieramycins. 17. a new generation of renieramycins: hydroquinone 5-o-monoester analogues of renieramycin m as potential cytotoxic agents against non-small-cell lung cancer cells. *Journal Of Natural Products*, Vol.80, No.5 : 1541-1547. doi : <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b00068>
- Chantarawong, W., Chamni, S., Suwanborirux, K., Saito, N., & Chanvorachote, P., 2019, 5-O-Acetyl-Renieramycin T from blue sponges *Xestospongia* sp. induces lung cancer stem cell apoptosis. *Marine drugs*, Vol.17, No.2 : 109. doi : <https://doi.org/10.3390/md17020109>
- Chaudhari, S., & Kumar, M. S., 2020, Marine sponges sarcotragus foetidus, xestospongia carbonaria and spongia obscura constituents ameliorate IL 1 B and IL 6 In lipopolysaccharide induced RAW 264.7 macrophages and carrageenan induced oedema in rats. *Cell*, Vol.80 : 100, doi : <https://doi.org/10.1007/s10787-020-00699-2>
- Concepcion, G. P., Anas, A. R. J., & Azcuna, M. A., 2014, Anticancer compounds from Philippine marine organisms act on major pathways in cancer. *Philippine Science Letters*, Vol.7, No.1 : 207-227.
- Dung, D. T., Hang, D. T. T., Yen, P. H., Quang, T. H., Nhiem, N. X., Tai, B. H., & Kiem, P. V., 2019, Macrocyclic bis-quinolizidine alkaloids from *Xestospongia muta*. *Natural Product Research*, Vol.33, No.3 : 400-406. doi : <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1455043>
- El-Gamal, A. A., Al-Massarani, S. M., Shaala, L. A., Alahdald, A. M., Al-Said, M. S., Ashour, A. E. & Youssef, D. T., 2016, Cytotoxic compounds from the Saudi Red Sea sponges *Xestospongia testudinaria*. *Marine drugs*, Vol.14, No.5 : 82. doi : <https://doi.org/10.3390/md14050082>
- Fabišková, M., Martinková, M., Hirková, S., Gonda, J., Pilátová, M. B., & Gönciová, G., 2016, Total synthesis and the anticancer activity of (+)-spisulosine. *Carbohydrate research*, Vol. 435 : 26-36. doi : <https://doi.org/10.1016/j.carres.2016.09.010>
- He, F., Mai, L. H., Longeon, A., Copp, B. R., Loaëc, N., Bescond, A. & Bourguet-Kondracki, M. L., 2015, Novel adociaquinone derivatives from the Indonesian sponges *Xestospongia* sp. *Marine drugs*, Vol.13, No.5 : 2617-2628. doi : <https://doi.org/10.3390/md13052617>
- Hudayah, T., Taib, M., Ismail, N., & Muhammad, T. S. T., 2017, Methanol extracts of four selected marine sponges induce apoptosis in human breast cancer cell line, MCF-7. *International Journal Of Research In Pharmaceutical Sciences*, Vol.8, No.4 : 667-675.
- Khalifa, S. A., Elias, N., Farag, M. A., Chen, L., Saeed, A., Hegazy, M. E. F. & Chang, F. R., 2019, Marine natural products: a source of novel anticancer drugs. *Marine Drugs*, Vol.17, No.9 : 491. doi : <https://doi.org/10.3390/md17090491>
- Maiuthed, A., Pinkhien, T., Chamni, S., Suwanborirux, K., Saito, N., Petpiroon, N., & Chanvorachote, P., 2017, Apoptosis-inducing effect of

- hydroquinone 5-o-cinnamoyl ester analog of renieramycin m on non-small cell lung cancer cells. *Anticancer research*, Vol.37, No.11 : 6259-6267.
- Nazemi, M., Khaledi, M., Golshan, M., Ghorbani, M., Amiran, M. R., Darvishi, A., & Rahmanian, O., 2020, Cytotoxicity activity and druggability studies of sigmasterol isolated from marine spon dysidea avara against oral epithelial cancer cell (KB/C152) and T-lymphocytic leukemia cell line (jurkat/E6-1). *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, Vol.21, No.4 : 997-1003. doi : 10.31557/APJCP.2020.21.4.997
- Nguyen, H. M., Ito, T., Win, N. N., Vo, H. Q., Nguyen, H. T., & Morita, H., 2019, A new sterol from the vietnamese marine spon *xestospongia testudinaria* and its biological activities. *Natural Product Research*, Vol.33, No.8 : 1175-1181. doi : <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1465057>
- Petsri, K., Chamni, S., Suwanborirux, K., Saito, N., & Chanvorachote, P., 2019, Renieramycin T induces lung cancer cell apoptosis by targeting Mcl-1 degradation: a new insight in the mechanism of action. *Marine drugs*, Vol.17, No.5 : 301. doi : <https://doi.org/10.3390/md17050301>
- Reddy, P. V., Hridhay, M., Nikhil, K., Khan, S., Jha, P. N., Shah, K., & Kumar, D., 2018, Synthesis and investigations into the anticancer and antibacterial activity studies of β -carboline chalcones and their bromide salts. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Vol.28, No.8 : 1278-1282. doi : <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.03.033>
- Ruocco, N., Costantini, S., & Costantini, M., 2016, Blue-print autophagy: potential for cancer treatment. *Marine Drugs*, Vol.14, No.7 : 138. doi : <https://doi.org/10.3390/md14070138>
- Sirimangkalakitti, N., Chamni, S., Charupant, K., Chanvorachote, P., Mori, N., Saito, N., & Suwanborirux, K., 2016, Chemistry of renieramycins. 15. synthesis of 22-o-ester derivatives of jorunnamycin a and their cytotoxicity against non-small-cell lung cancer Cells. *Journal Of Natural Products*, Vol.79, No.8 : 2089-2093. doi : <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b00433>
- Sirimangkalakitti, N., Chamni, S., Suwanborirux, K., & Chanvorachote, P., 2017, Renieramycin M attenuates cancer stem cell-like phenotypes in H460 lung cancer cells. *Anticancer Research*, Vol.37, No.2 : 615-621.
- Swantara, M. D., Rita, W. S., Suartha, N., dan Agustina, K. K., 2019, Anticancer activities of toxic isolate of *xestospongia testudinaria* spon. *Veterinary World*, Vol. 12, No.9 : 1434-1440.
- Tun, J. O., Salvador-Reyes, L. A., Velarde, M. C., Saito, N., Suwanborirux, K., & Concepcion, G. P., 2019, Synergistic cytotoxicity of renieramycin M and doxorubicin in MCF-7 breast cancer cells. *Marine drugs*, Vol.17, No.9 : 536. doi : <https://doi.org/10.3390/md17090536>
- Trianto, A., Ridhlo, A., Triningsih, D. W., & Tanaka, J., 2016, Study on anticancer activity of extracts of sponges collected from biak water, Indonesia. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. Vol.55, No.1.
- Wargasetia, T. L., & Widodo, N., 2019, The link of marine products with autophagy-associated cell death in cancer cell. *Current Pharmacology Reports*, Vol.5, No.1 : 35-42. doi : <https://doi.org/10.1007/s40495-019-00167-8>
- Ye, J., Zhou, F., Al-Kareef, A. M., & Wang, H., 2015, anticancer agents from marine spon. *Journal Of Asian Natural Products Research*, Vol.17, No.1 : 64-88. doi : <https://doi.org/10.1080/10286020.2014.970535>
- Zhou, X., Yue, G. G. L., Tsui, S. K. W., Pu, J., Fung, K. P., & Lau, C. B. S., 2018, Elaborating the role of natural products on the regulation of autophagy and their potentials in breast cancer therapy. *Current Cancer Drug Targets*, Vol.18, No.3 : 239-255. doi : <https://doi.org/10.2174/1568009617666170330124819>

AKTIVITAS ANTIHIPERKOLESTEROLEMIA EKSTRAK AKAR DAN BATANG KEMANGI HUTAN (*Ocimum sanctum*) PADA TIKUS PUTIH

Yohana K. A. Mbulang¹, Agustine E. Amsikan², Aloysius M. Kopon³

¹ Program Studi Farmasi Universitas Citra Bangsa Kupang

² Program Studi Sarjana Farmasi Universitas Citra Bangsa Kupang

³ Program Studi Farmasi Universitas Citra Bangsa Kupang

Email : ayepa92@gmail.com

ABSTRACT

*Hypercholesterolemia is a high level of cholesterol in the blood ≥ 200 mg/dl. *Ocimum sanctum* is medical plants which have antihypercholesterolemic effects. This study aims to determine that antihypercholesterolemic activity and the best dose of roots and stems extracts of *Ocimum sanctum* which can provide antihypercholesterolemic effects in white rats fed a high fat diet. A total of 25 rats divided into 5 groups that is group positive control, group negative control, group roots and stems extracts of *Ocimum sanctum* with dose of 50 mg/kg body weight, 75 mg/kg body weight and 100 mg/kg body weight. Cholesterol and triglyceride levels measurement using the CHOP- PAP and GPO-PAP methods. The results of statistical analysis showed that there was an antihypercholesterolemic effect from the three doses of root and stem extracts *Ocimum sanctum*. The best dose as an antihypercholesterolemia is dose III (100 mg/kg body weight).*

Keywords : Antihypercholesterol, total cholesterol, triglycerides.

ABSTRAK

Hiperkolesterolemia merupakan tingginya kadar total kolesterol dalam darah ≥ 200 mg/dl. Kemangi hutan merupakan tanaman obat yang memiliki efek sebagai antihiperkolesterolemia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antihiperkolesterolemia dan dosis yang paling baik dari ekstrak akar dan batang kemangi hutan yang dapat memberikan efek antihiperkolesterolemia pada tikus putih yang diberi pakan diet lemak tinggi. Sebanyak 25 ekor tikus dibagi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif, kelompok ekstrak akar dan batang kemangi hutan dengan dosis 50 mg/kg BB, 75 mg/kg BB, dan 100 mg/kg BB. Kadar kolesterol dan trigliserida diukur menggunakan metode CHOD-PAP dan GPO-PAP. Hasil analisis statistik menunjukkan adanya efek antihiperkolesterolemia dari ketiga dosis ekstrak akar dan batang kemangi hutan. Dosis yang paling baik sebagai antihiperkolesterolemia adalah dosis III (100 mg/kg BB).

Kata kunci : Antihiperkolesterolemia, kolesterol total, trigliserida.

PENDAHULUAN

Hiperkolesterolemia merupakan tingginya kadar total kolesterol dalam darah ≥ 200 mg/dl (Lestari Widya, 2017). Hiperkolesterolemia dapat terjadi karena gaya hidup yang tidak sehat, seperti mengkonsumsi makanan yang tidak seimbang dan kurangnya aktivitas olahraga. Tingginya kadar kolesterol dapat disebabkan oleh sintesis kolesterol dan

penyerapan kolesterol yang tinggi dan juga karena kebiasaan konsumsi makanan tinggi lemak serta tinggi karbohidrat (Hernawati dkk., 2013). Kolesterol berlebihan dalam darah dapat membentuk plak pada dinding pembuluh darah yang dapat menyebabkan penyempitan lumen yang dinamakan aterosklerosis (Susiwati dkk., 2018). Konsumsi lemak 100 mg/hari dapat

meningkatkan kolesterol total sebanyak 2-3 mg/dl (Yani, 2015).

Prevalensi hiperkolesterolemia di Indonesia pada kelompok usia 25-34 tahun adalah 9,3% dan meningkat sesuai dengan pertambahan usia pada kelompok usia 55-64 hingga 15,5% (Aurora dkk., 2012). Profil Penyakit Tidak Menular (PTM) tahun 2016 pada Puskesmas di Provinsi NTT berada pada urutan ke-16 dari 34 Provinsi dengan % kolesterol tinggi yaitu 43,8% (Kemenkes RI, 2017).

Upaya pencegahan penyakit hiperkolesterolemia dapat dilakukan dengan berbagai cara seperti perubahan gaya hidup yaitu dengan mengkonsumsi jenis sayur dan buah yang mengandung tinggi serat dan antioksidan, juga dengan penggunaan obat antilipemika. Obat yang paling sering digunakan adalah simvastatin. Simvastatin dapat memberikan efek samping seperti rambut rontok (*reversible*), gangguan psikis (depresi, ketakutan, kecenderungan bunuh diri) dan kerusakan hati (hepatitis) (Tjay dan Rahardja, 2015).

Karena efek samping dari obat-obat antilipemika maka diperlukan alternatif lain untuk mengurangi efek samping yang terjadi dengan penggunaan obat herbal. Penggunaan tumbuhan sebagai obat herbal merupakan pendekatan yang populer untuk perawatan kesehatan, dan juga merupakan suatu cara pengobatan di berbagai daerah berkembang (Hermin dkk, 2016). Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antihiperkolesterolemia adalah kemangi hutan (*Ocimum sanctum*). Kandungan kelompok senyawa kimia dalam tanaman kemangi hutan yang diduga memiliki peran dalam aktivitas penurunan kolesterol adalah flavanoid, tanin dan eugenol.

Hasil penelitian Samak *et al.* (2007) menunjukkan bahwa ekstrak daun kemangi hutan (*Ocimum sanctum*) dengan dosis 25, atau 50 mg/kg berat badan dapat menurunkan LDL-Kolesterol, kolesterol dan trigliserida di hati

dan aorta pada kelinci albino jantan yang diberi kolesterol 0,5 g/hari selama 45 hari. Hasil penelitian lainnya oleh Rachmawati *et al.* (2019) menyatakan bahwa ekstrak daun kemangi dengan dosis 80 mg/kgBB yang dapat menurunkan kadar kolesterol yang signifikan. Penelitian ini akan menggunakan bagian tanaman yang berbeda dari penelitian sebelumnya yaitu akar dan batang dari tanaman kemangi hutan.

METODE PENELITIAN

a. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Universitas Citra Bangsa pada bulan Juli-September 2020.

b. Bahan

Bahan yang digunakan adalah akar dan batang kemangi hutan, Etanol 70%, air, aquadest, pereaksi Wagner, pereaksi Mayer, larutan HCL 1%, larutan HCl pekat, FeCl₃, pita Mg, larutan H₂SO₄, asam asetat glasial, kloroform, reagen kolesterol, simvastatin sebagai kontrol positif, Na CMC 0,5% sebagai kontrol negatif, pakan diet lemak tinggi yaitu kuning telur puyuh, dan pakan standar.

c. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak Akar dan Batang Kemangi Hutan

Serbuk akar dan batang kemangi hutan, ditimbang masing-masing sebanyak 500 g dan dimasukkan ke dalam botol kaca cokelat. Kemudian ditambahkan etanol 70% sebanyak 2500 mL sampai menutupi seluruh bagian serbuk simplisia dan campuran dikocok hingga tercampur merata. Ekstrak disimpan selama 3 hari terhindar dari cahaya matahari dan diletakan pada suhu ruangan serta sesekali digojok. Rendaman simplisia disaring menggunakan corong dan kertas saring. Filtrat yang didapat didiamkan selama 2 hari untuk mengurangi kadar alkohol, kemudian

diapkan menggunakan evaporator pada suhu 40°C, untuk mendapatkan ekstrak kental. Selanjutnya dihitung persentase rendemen ekstrak dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Berat ekstrak (g)}}{\text{Berat simplisia kering (g)}} \times 100$$

2. Uji Residu Pelarut Ekstrak Etanol

Uji residu pelarut dilakukan dengan 2 metode yaitu reaksi esterifikasi dan menggunakan alkoholmeter.

2.1 Reaksi esterifikasi

Sebanyak 4 mL minyak goreng dimasukkan ke dalam kaca arloji, kemudian ditambahkan ekstrak akar dan batang kemangi hutan sebanyak 0,01 mg dan asam sulfat 98% sebanyak 3 tetes lalu membaui aroma yang dihasilkan. Jika tercium aroma wangi maka ekstrak tersebut masih mengandung pelarut etanol, jika tidak tercium aroma harum maka ekstrak tidak mengandung etanol dan merupakan ekstrak murni.

2.2 Alkoholmeter

Ekstrak akar dan batang kemangi hutan dilarutkan dengan aquadest dalam gelas ukur, kemudian masukan alkoholmeter ke dalam gelas ukur tersebut, alkoholmeter dibiarkan mengapung dan amati angka pada alat alkoholmeter.

3. Uji Sifat Fisikokimia

3.1 Massa Jenis

Gelas kimia 10 mL ditimbang, dipanaskan pada suhu 110 °C selama 15 menit dan didinginkan dalam desikator. Timbang kembali beaker gelas tersebut (perlakuan dilakukan secara berulang sampai mendapat berat gelas kimia yang konstan).

Masukkan ekstrak akar dan batang kemangi hutan sebanyak 1 mg ke dalam gelas kimia tersebut, tambahkan etanol 95% sebanyak 1 mL, aduk sampai

homogen, timbang volume larutan kombinasi ekstrak akar dan batang kemangi hutan dan hitung massa jenisnya dengan rumus :

$$\rho = \frac{\text{massa ekstrak}}{\text{volume ekstrak}}$$

3.2 Kelarutan

Masukkan ekstrak akar dan batang kemangi hutan sebanyak 0,01 mg tambahkan 2 mL aquadest, kocok campuran dan amati kelarutan yang terjadi. Ulangi langkah tersebut dengan menggantikan aquadest dengan etanol 95% pa, aseton 98% pa, dan kloroform 95% pa.

3.3 Titik Didih

Masukkan ekstrak akar dan batang kemangi hutan sebanyak 0,1 mg ke dalam cawan petri yang telah dilengkapi dengan termometer pada statif, dipanaskan hingga mencapai suhu tertinggi (110 °C) dan catat hasil pengamatan suhu yang diperoleh.

4. Identifikasi Komponen Fitokimia

4.1 Uji Tanin

Masukkan 0,5 g ekstrak etanol 70% akar dan batang kemangi hutan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 10 mL aquadest, aduk sampai homogen, kemudian saring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh diambil sebanyak 2 mL, tambahkan 2 tetes FeCl₃ 1%. Jika terbentuk warna biru atau hijau kehitaman maka ekstrak positif mengandung tanin (Hasibuan dkk., 2020).

4.2 Uji Flavonoid

Masukkan 0,5 g ekstrak akar dan batang kemangi hutan dalam tabung reaksi, tambahkan sedikit etanol untuk melarutkan ekstrak, tambahkan pita magnesium dan HCl 1 mL. Jika terbentuk larutan warna berwarna kuning, merah, jingga dan hijau menunjukkan adanya flavonoid (Fajriaty dkk., 2018).

4.3 Uji Saponin

Masukkan 0,5 g ekstrak akar dan batang kemangi hutan kedalam tabung reaksi, tambahkan 2 mL etanol 70% kemudian diaduk, tambahkan 20 mL aquadest dan dikocok kuat kemudian amati selama 15-20 menit. Jika terbentuk busa maka menunjukkan adanya saponin (Sopianti dan Sary, 2018).

4.4 Uji Alkaloid

Uji alkaloid di lakukan dengan 2 pereaksi yaitu Mayer dan Wagner :

Masukkan 1 g ekstrak akar dan batang kemangi hutan ke dalam masing-masing tabung A dan B, tambahkan 2,5 mL HCl 2 N pada tabung A. Kocok campuran hingga homogen dan dipanaskan. Tambahkan 0,5 mL reagen Mayer ke dalam tabung A dan 0,5 mL reagen Wagner ke dalam tabung B. Jika pada tabung A terbentuk endapan putih atau kuning dan tabung B terbentuk endapan cokelat maka ekstrak positif mengandung alkaloid (B. Muthmainnah, 2017).

4.5 Uji Triterpenoid dan steroid

Masukkan 1 mL ekstrak akar dan batang kemangi hutan ke dalam tabung reaksi, tambahkan kloroform sebanyak 0,5 mL, dan asam asetat anhidrida sebanyak 0,5 mL, tetesi asam sulfat pekat sebanyak 2 mL melalui dinding tabung tersebut. Jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid. Jika terbentuk cincin kecoklatan atau violet menunjukkan adanya triterpenoid (Simaremare, 2014).

5. Analisis Komponen Senyawa Kimia

5.1 KLT (Kromatografo Lapis Tipis)

Plat KLT dipanaskan dalam oven pada suhu 100⁰ C selama 30 menit kemudian didinginkan di udara terbuka selama 1 jam. Potong plat kromatografi lapis tipis (KLT), dengan panjang 5 cm dan lebar 2 cm, beri garis batas bawah 1 cm dan batas atas 0,5 cm dengan pensil.

Masukkan 4 mL metanol dan 6 mL aseton ke dalam beaker gelas, campur hingga homogen (digunakan sebagai fase gerak), larutkan ekstrak akar dan batang kemangi hutan sebanyak 0,01 mg dalam tabung reaksi kecil dan tambahkan 5 mL metanol dalam tabung reaksi tersebut. Campuran ekstrak akar dan batang kemangi hutan ditotolkan pada plat KLT di batas bawah, lalu dikeringkan beberapa menit. Masukkan plat KLT ke dalam botol *chamber* yang telah berisi fase gerak dan biarkan beberapa menit, sampai ekstrak yang dibawa oleh fase gerak mendekati batas atas pada plat KLT. Plat kromatografi lapis tipis (KLT) diangkat dari botol *chamber* dan dibiarkan beberapa menit, amati noda hasil pada plat KLT menggunakan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan buat lingkaran noda pada plat KLT serta amati warna nodanya. Hitung nilai Rf.

6. Perlakuan Hewan Uji

Sebanyak 25 ekor tikus putih yang diberikan pakan standar dan diet lemak tinggi. Kelompok perlakuan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu :

Kelompok I : Simvastatin 0,18 mg/kg BB tikus.

Kelompok II : Na CMC 0,5%

Kelompok III : ekstrak akar dan batang kemangi hutan 50 mg/kg BB tikus.

Kelompok IV : ekstrak akar dan batang kemangi hutan 75 mg/kg BB tikus.

Kelompok V : ekstrak akar dan batang kemangi hutan 100 mg/kg BB tikus.

7. Pengukuran Kadar Kolesterol dan trigliserida

Kadar kolesterol dan trigliserida diukur pada hari ke-0, hari ke-20 dan hari ke-34, menggunakan metode CHOD-PAP

dan GPO-PAP di Rumah Sakit Leona Kupang, menggunakan alat fotometer.

7.1 Pengukuran Kolesterol Total

Sebanyak 10 µl serum ditambah dengan 1000 µl reagen kolesterol dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah disterilisasi, dihomogenkan dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 20-25 °C dan dibaca absorbansinya dengan alat fotometer (Putri dkk, 2014).

7.2 Pengukuran Triglisierida

Sebanyak 10 µl serum ditambah dengan 1000 µl reagen triglisierida dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah disterilisasi, dihomogenkan dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 20-25 °C dan dibaca absorbansinya dengan alat fotometer (Primawestari dan Rustanti, 2014).

8. Analisis Statistik

Data penurunan dan peningkatan kadar kolesterol total dan triglisierida yang diperoleh dianalisis menggunakan SSPS, jika data yang diperoleh terdistribusi normal ($P > 0,05$), maka dilanjutkan dengan pengujian parametrik, tetapi jika diperoleh tidak terdistribusi normal ($P < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji non parametrik. Pengujian parametrik dilakukan dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan kontrol dengan perlakuan yaitu *One way analisis of variance*. Perbedaan dinyatakan dengan nilai $P < 0,05$ sedangkan jika $P > 0,05$ dinyatakan tidak ada perbedaan. Jika ada perbedaan maka dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* yang bertujuan untuk melihat adanya perbedaan diantara masing-masing kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pembuatan Ekstrak Akar dan Batang Kemangi Hutan

Hasil ekstraksi 500 g akar dan 500 g batang dengan 5000 mL etanol 70% mendapatkan ekstrak kental sebesar 18,1 g untuk akar dan 17,68 g untuk batang. Dari berat ini didapatkan nilai rendemen sebesar 3,62% untuk akar kemangi hutan dan 3,54% untuk batang kemangi hutan.

Tabel 1. Hasil rendemen ekstrak akar dan batang kemangi hutan

Berat serbuk (g)	Berat ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
500 (Akar)	18,1	3,62
500 (Batang)	17,68	3,54

Data pada tabel 1 menunjukkan bahwa setiap 1 g simplisia akar dan batang kemangi hutan menghasilkan 0,0268 g ekstrak akar kemangi hutan dan 0,0191 g ekstrak batang kemangi hutan. Kualitas ekstrak yang dihasilkan biasanya berbanding terbalik dengan jumlah rendemen yang dihasilkan, semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan maka semakin rendah mutu yang didapatkan (Cahyadi dkk., 2018).

2. Uji Pelarut Etanol

Tabel 2. Hasil Uji Pelarut Etanol

No	Reagen	Pengamatan	Simpulan
1.	Minyak goreng + asam sulfat 98%	Tidak tercium aroma wangi	Alkohol (-)
2.	Aquadest	Angka pada alkoholmeter menunjukkan pada angka 0	Alkohol (-)

Hasil uji pelarut dengan cara reaksi esterifikasi didapatkan ekstrak tidak menghasilkan aroma wangi apapun. Sedangkan dengan menggunakan

alkoholmeter didapatkan alkoholmeter menunjukkan pada angka 0. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak akar dan batang kemangi hutan tidak mengandung alkohol sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak akar dan batang kemangi hutan memiliki mutu yang baik.

3. Uji Sifat Fisikokimia

Sifat fisika dan kimia dari suatu molekul atau zat harus diketahui karena sifat ini menentukan kemurnian dari suatu zat yang akan dijadikan obat dan dapat mempengaruhi aktivitas terapetiknya (Sinila, 2016 ; Cartika, 2016).

a. Massa Jenis

Hasil penetapan massa jenis ekstrak akar dan batang kemangi hutan adalah 0,628 g/ml. Hal ini menunjukkan bahwa setiap 1 mL mengandung 0,628 g ekstrak akar dan batang kemangi hutan. Massa jenis kecil menunjukkan Mr molekul yang dan lebih mudah terabsorpsi sehingga difusi dalam darah cepat dan interaksi dengan reseptor cepat sehingga proses penurunan kolesterol berlangsung lebih cepat. Semakin besar massa jenis maka semakin besar pula Mr dan struktur senyawa sehingga hambatan sterik makin besar menyebabkan aktivitas biologis menjadi lambat (Beon dan Leki, 2018).

b. Kelarutan

Tabel 3. Hasil Uji Kelarutan

Reagen	Simpulan
Etanol	Ekstrak larut
Aseton 98%	Ekstrak sedikit larut
Kloroform 75%	Ekstrak tidak larut
Aquadest	Ekstrak larut

Hasil uji kelarutan ekstrak akar dan batang kemangi hutan menunjukkan terbentuknya larutan yang homogen pada pelarut polar seperti aquadest dan etanol. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak akar dan batang kemangi hutan banyak membentuk ikatan hidrogen dengan pelarut polar.

c. Titik Didih

Hasil penentuan titik didih ekstrak akar dan batang kemangi hutan menunjukkan bahwa ekstrak akar dan batang kemangi hutan memiliki titik lebur sebesar 108 °C. Pada suhu 108 °C menunjukkan bahwa pada ekstrak akar dan batang kemangi hutan terbentuk banyak ikatan hidrogen antar senyawa sehingga membutuhkan suhu yang tinggi untuk memutuskan ikatan hidrogen tersebut.

4. Identifikasi Komponen Fitokimia

Tabel 4. Hasil Identifikasi Kandungan Fitokimia

No	Kelompok Senyawa Kimia	Reagen	Simpulan
1.	Tanin	Aquadest + FeCl ₃	Tanin (+)
2.	Flavonoid	Pita magnesium + HCl pekat	Flavonoid (+)
3.	Saponin	Etanol 70% + aquadest	Saponin (+)
4.	Alkaloid	HCl 2 N + Mayer	Alkaloid (+)
	Alkaloid	HCl 2 N + Wagner	Alkaloid (+)
5.	Triterpenoid	Kloroform + Asam asetat + Asam Sulfat Pekat	Triterpenoid (+)
	Steroid	Kloroform + Asam asetat + Asam Sulfat Pekat	Steroid (-)

Hasil identifikasi kandungan fitokimia ekstrak akar dan batang kemangi hutan menunjukkan ada kelompok senyawa tanin, flavanoid, saponin, alkaloid dan triterpenoid.

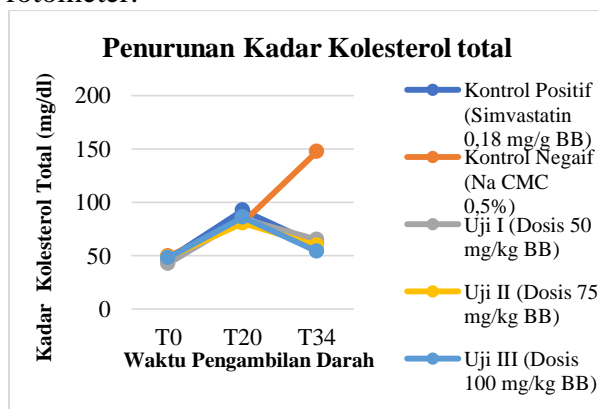
5. Analisis Komponen Senyawa Kimia Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Hasil pengamatan dengan menggunakan lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm diketahui terdapat satu noda berwarna kuning coklat dengan nilai Rf yang didapat adalah 0,82. Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak akar dan batang kemangi hutan mengandung golongan senyawa alkaloid yang lebih dominan.

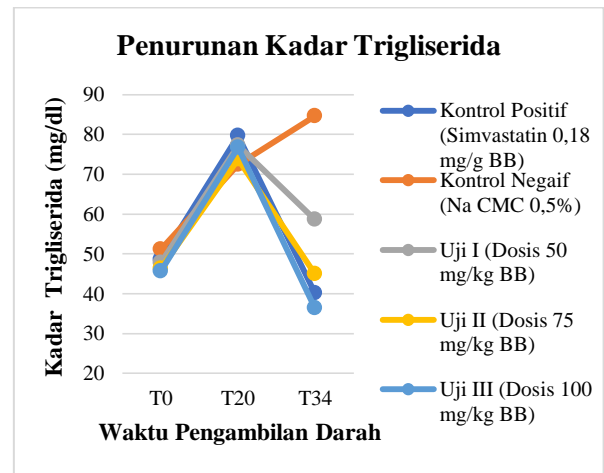
6. Pengukuran Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida

Pengukuran kadar kolesterol total dan trigliserida dilakukan dengan menggunakan serum darah tikus putih jantan yang diambil pada hari ke 0 sebagai data kadar kolesterol awal/tanpa perlakuan, pada hari ke 20 sebagai data peningkatan kadar kolesterol total dan trigliserida diet lemak tinggi dan pada hari ke 34 sebagai data pengujian aktivitas ekstrak akar dan batang kemangi hutan.

Pengukuran kadar kolesterol total dan trigliserida dilakukan dengan pengambilan darah tikus melalui vena mata dengan tujuan agar darah yang diperoleh lebih banyak jumlahnya, lebih cepat dan lebih steril (Fatimah, 2018). Pengukuran kadar kolesterol total dan trigliserida dilakukan dengan menggunakan metode CHOD-PAP dan GPO-PAP dengan menggunakan alat fotometer.



Gambar 1. Grafik penurunan kadar kolesterol total



Gambar 2. Grafik penurunan kadar trigliserida

Gambar 1. dan 2. menunjukkan bahwa Dosis III (100 mg/kg BB tikus) memiliki aktivitas yang lebih baik dalam menurunkan kolesterol dibandingkan dengan kontrol positif, dosis II (75 mg/kg BB tikus) dan dosis I (50 mg/kg BB tikus). Hal ini menunjukkan bahwa dosis III (100 mg/kg BB tikus) memiliki lebih banyak gugus aktif yang mampu menurunkan kadar kolesterol. Selisih penurunan kadar kolesterol total untuk dosis I dan kontrol positif tidak berbeda jauh tetapi untuk dosis I dan II memiliki perbedaan yang jauh dengan kontrol positif.

Ekstrak akar dan batang kemangi hutan memiliki aktivitas antihiperkolesterol karena mengandung senyawa aktif seperti eugenol, flavanoid dan tanin. Penurunan kadar kolesterol total dan trigliserida akibat pemberian ekstrak akar dan batang kemangi hutan disebabkan karena pada kombinasi ekstrak akar dan batang kemangi hutan memiliki mekanisme kerja yang sinergis dari senyawa aktif kedua bagian tanaman.

Kelompok senyawa flavanoid dapat menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida dengan menghambat kerja HMG Ko-A reduktase yang berfungsi untuk mengubah 3-hidroksi-3-metilglutaril-Ko-A (HMG Ko-A) menjadi mevalonat dalam sintesis kolesterol di hati. Hambatan ini menyebabkan

penurunan produksi kolesterol dan meningkatkan jumlah reseptor LDL yang terdapat di dalam membran sel hati dan jaringan ekstrahepatik sehingga kadar kolesterol total akan menurun. Karena terjadinya penurunan kadar kolesterol maka LDL yang berfungsi sebagai alat pengangkut lipid didalam darah akan berkurang kadarnya (Azhari *et al.*, 2017 ; Mutia dkk., 2018).

Senyawa eugenol juga memiliki aktivitas dalam menurunkan kolesterol dengan mekanisme kerja menghambat peroksidasi lipid (Rachmawati dkk., 2019).

Senyawa tanin juga dapat berfungsi dalam menurunkan kolesterol dengan mekanisme kerjanya yaitu dengan membentuk ikatan dengan protein dan melapisi dinding usus halus sehingga penyerapan lemak didalam usus akan terhambat dan terjadinya penurunan sintesis kolesterol (Mutia dkk., 2018).

7. Analisis Statistik

Data penurunan kadar kolesterol total selanjutnya dilakukan uji distribusi *Shapiro-Wilk*. Uji distribusi *Shapiro-Wilk* bertujuan untuk melihat apakah data yang diuji terdistribusi normal atau tidak. Hasil uji distribusi *Shapiro-Wilk* pada kolesterol total dan trigliserida menunjukkan nilai signifikan setiap kelompok perlakuan adalah $P > 0,05$, yang menunjukkan bahwa data yang diperoleh memiliki sebaran yang normal pada setiap kelompok.

Setelah dilakukan uji *Shapiro-Wilk* dilanjutkan dengan uji homogenitas, uji ini bertujuan sebagai syarat untuk dilakukan uji ANOVA. Hasil uji homogenitas untuk kolesterol total dan trigliserida menunjukkan hasil 0,195 dan 0,812 ($P > 0,05$) nilai ini menunjukkan bahwa adanya kesamaan varian dalam satu kelompok perlakuan dan memenuhi syarat untuk dilakukannya uji *One Way ANOVA*.

Uji *One Way ANOVA* dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan nilai rata-

rata antar kelompok perlakuan. Hasil uji *One Way ANOVA* untuk kolesterol total dan trigliserida menunjukkan nilai 0,00 dan 0,00 ($P < 0,05$) yang berarti memiliki perbedaan nilai rata-rata antar tiap kelompok.

Selanjutnya dilakukan uji *Post hoc* dengan teknik *Tukey HSD* yang bertujuan untuk melihat perbedaan nilai rata-rata antar kelompok uji. Hasil uji *Post hoc* dengan teknik *Tukey HSD* menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang signifikan dengan kontrol negatif antara kontrol positif, dosis I (50 mg/kg BB tikus), dosis II (75 mg/kg BB tikus) dan dosis III (100 mg/kg BB tikus). Hal ini menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif tidak memberikan aktivitas penurunan kadar kolesterol total dan trigliserida. Sedangkan antara kontrol positif, dosis II (75 mg/kg BB tikus) dan dosis III (100 mg/kg BB tikus) tidak adanya perbedaan yang signifikan, tetapi ada perbedaan signifikan dengan dosis I (50 mg/kg BB tikus). Hal ini menunjukkan bahwa dosis III (100 mg/kg BB tikus) dan dosis II (75 mg/kg BB tikus) memiliki aktivitas yang sama dengan kelompok kontrol positif dalam menurunkan kolesterol total dan trigliserida, tetapi kontrol positif dan dosis III (100 mg/kg BB tikus) memiliki aktivitas penurunan kolesterol total dan trigliserida yang berbeda dengan dosis I.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak akar dan batang kemangi hutan (*Ocimum sanctum*) memiliki aktivitas antihiperkolesterolemia dengan dosis yang paling baik dalam menurunkan kolesterol total dan trigliserida pada tikus putih yang diberi pakan diet lemak tinggi adalah dosis III yaitu 100 mg/kg BB tikus.

DAFTAR PUSTAKA

- Azhari, dkk. 2017. Uji Aktivitas Antihiperkolesterolemia Ekstrak Air Buah Belimbing Wuluh (*Averrho bilimbi* Linn.) Pada Pemodelan Tikus Jantan Galur Wistar Hiperkolesterolemia. *Traditional Medicine Journal*. 22(1): 61.
- Muthmainnah, 2017. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) Dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi*. 13(2) ; 26.
- Beon dan Leki. 2018. Identifikasi Komponen Fitokimia Dalam Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*). *CHMKPharmaceutical Scientific Journal*. 1(2): 2-3.
- Cahyadi, J., 2018. Skrining Fitokimia Ekstrak Buah Mangrove (*Sonneratia alba*) Sebagai Bioenrichment Pakan Alami Artemia Salina. *Jurnal Borneo Saintek*. 1(3): 35.
- Cartika, H., 2016. *Kimia Farmasi*. Jakarta : Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 1.
- Fajriaty, dkk. 2018. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis dari Ekstrak Etanol Daun Bintangur (*Calophyllum soulatri* Burn. F.). *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*. 7(1): 57.
- Fatimah, Siti dkk. 2018. Total Cholesterol Level of Hypercholesterolemia Male Wistar Rats (*Rattus norvegicus*) With Ethanol Extracts of Purple Sweet Potato Leaf (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). *Journal of Health*, 5(1): 37.
- Hasibuan, dkk. 2020. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* L.). *Jurnal farmasi (JFM)*. 2(2): 46.
- Hermin dkk. 2016. Kajian Etnofarmasi Etnik Bungkudi Kecamatan Bungku Tengah Kabupaten Morowaliprovinsi Sulawesi Tengah. *Galenika Journal of Pharmacy*. 2(2): 77.
- Hernawati, dkk. 2013. Perbaikan Parameter Lipid Darah Meneit Hiperkolesterolemia dengan Suplemen Pangan Bekatul. *MKB*. 45(1): 2.
- Kemendes RI. 2017. Kemendes Ingatkan Pola Hidup Cerdik Untuk Hindari Penyakit Jantung. <https://www.kemendes.go.id/article/print/17073100005/rs-jantung-harapan-kita-pengampu-rujukan-kardiovaskular.html>. (diakses 26 Oktober 2019)
- Kemendes RI. 2017. RS Jantung Harapan Kita Pengampu Rujukan Kardiovaskular. <https://www.kemendes.go.id/article/print/18111200002/penyakit-jantung-penyebab-kematian-tertinggi-kemendes-ingatkan-cerdik.html>. (diakses 26 Oktober 2019)
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. Profil Penyakit Tidak Menular Tahun 2016. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI. Hal. 24-25
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2018. Laporan Nasional Riskesdas 2018. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI. Hal. 150 dan 153.
- Lestari Widya dan Utari Diah, 2017. Faktor Dominan Hiperkolesterolemia Pada Pra-Lansia di Wilayah Kerja Puskesmas Rangkapanjaya Kota Depok. *Journal of Community Medicine and Public Health*. 33(6): 268.
- Mutia dkk. 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev) Terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia. *Urnal Bioleuser*. 2(2): 32.
- Primawestari, Maria dan Rustanti, Ninik. 2014. Pengaruh Pemberian Susu Koro Pedang (*Canavalia ensiformis*) Terhadap Kadar Kolesterol Total Dan Trigliserida Serum Tikus Sprague Dawley Hiperkolesterolemia. *Journal of Nutrition College*. 3(4): 449.

- Putri Yulanda, Yelsa, 2014. Perbedaan Rasio Kolesterol Total/HDL Kelompok Kontrol dan Kelompok Diet Tinggi Minyak Sawit Pada Tikus Wistar. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 3(3): 488.
- Rachmawati *et al.* 2019. Basil Leaves (*Ocimum sanctum* linn.) Extract Decreases Total Cholesterol Levels in Hypercholesterolemia Sprague Dawley Rats Model. IOP Conf. Series: *Materials Science and Engineering*. 546.
- Samak, Geetha *et al.* 2007. Hypolipidemic Efficacy Of *Ocimum Sanctum* In The Prevention Of Atherogenesis In Male Albino Rabbits. *Pharmacology online*. 2: 124.
- Sinila, S. 2016. *Farmasi Fisik*. Jakarta : Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 3.
- Simaremare, Eva. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy* 11(1):101, 102.
- Sopianti dan Sary. 2018. Skrining Fitokimia dan Profil KLT Metabolit Sekunder Dari Daun Ruku-Ruku (*Ocimum tenuiflorum* L.) dan Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.). *SCIENTIA Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, 8(1): 46.
- Susiwati. 2018. Analisis Kolesterol Low Density Lipoprotein (Ldl) Pada Pengkonsumsi Produk Minuman Herbal "X" Kota Bengkulu Tahun 2017. *Journal of Nursing and Public Health*, 6(2): 96.
- Tjay TH, Rahardja K. 2015. *Obat-Obat Penting (Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya)*. Jakarta: Penertbit Elex Media Komputindo. Hal. 571, 572, 573, 577, 578, 583
- Yani, Muhamad. 2015. Mengendalikan Kadar Kolesterol Pada Hiperkoles-terolemia. *Jurnal Olahraga Prestasi*, 11(2): 2.