



Anti-Inflammatory Effect Of Extract And Fractions Of Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) Leaves



Nur Hidayah^a, Ritbey Ruga^a, Chairul Saleh^{a*}

^a Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman, Indonesia

* Corresponding Author: chairulsaleh3103@gmail.com

ABSTRACT

Anti-inflammatory activity test of extract and fraction of gaharu leaf (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) against protein denaturation inhibition in vitro has been carried out. This study aims to determine the percent inhibition of protein denaturation and the strength of anti-inflammatory activity of the concentrated methanol extract, ethyl acetate fraction, and methanol-water fraction of gaharu leaves (*Aquilaria malaccensis* Lamk.). BSA (Bovine serum albumin) is used as the protein to be heated. Diclofenac sodium was used as positive control and the negative control used the appropriate solvent. Based on phytochemical screening test, methanol extracts are known to contain secondary metabolites including flavonoids, triterpenoids, steroids and phenolics. The n-hexane fraction contains triterpenoid and steroid compounds. The ethyl acetate fraction contains flavonoid, triterpenoid, steroid and phenolic compounds while the methanol-water fraction contains flavonoid, triterpenoid and phenolic compounds. The results of the anti-inflammatory activity test of crude extract methanol and ethyl acetate fraction showed moderate antiinflammatory potential with IC_{50} values of 181.58, 168.87 ppm respectively, the methanol-water fraction has strong anti-inflammatory potential with IC_{50} value of 60.84 ppm.

This is an open-access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



Article History

Received 2023-06-16

Revised 2023-10-21

Accepted 2023-11-02

Keywords

Myrmecodia pendens-merr & perry
Rubiaceae
Antioxidant
Toxicities
HPLC
TLC

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang memiliki berbagai jenis spesies tumbuhan yang mempunyai efek penyembuhan sehingga dapat digunakan dalam pengobatan berbagai jenis penyakit dibandingkan dengan obat sintetik yang sebagian besar memiliki efek samping yang cukup berbahaya [1]. Jenis tanaman yang dibudidayakan untuk keperluan obat-obatan salah satunya tanaman gaharu.

Gaharu merupakan tanaman yang memiliki resin berbau khas dan tersebar cukup luas di Indonesia sehingga mudah untuk ditemui selain itu gaharu telah dibuktikan secara klinis di bidang kesehatan memiliki manfaat sebagai obat antiasmatik, mengurangi nyeri sendi dan tulang, membantu mengurangi sakit maag dan gangguan lainnya [2].

Daun gaharu jenis *Aquilaria malaccensis* Lamk. mempunyai aktivitas anti inflamasi pada senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid glikosida. Selain itu, berdasarkan penelitian dari senyawa metabolit sekunder golongan fenolik dan tanin diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi yang baik [3,4].

Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian terhadap aktivitas antiinflamasi pada ekstrak pekat metanol, fraksi etil asetat dan fraksi metanol-air daun gaharu secara *in*



vitro terhadap penghambat denaturasi protein menggunakan spektrofotometer *ultraviolet-visible* (UV-Vis). Terdapat dua tahap dalam penelitian yaitu proses ekstraksi dan fraksinasi menggunakan pelarut organik agar memperoleh ekstrak kasar dan fraksi-fraksi dari daun gaharu, pada tahap kedua silakukan uji aktivitas antiinflamasi pada ekstrak dan fraksi daun gaharu.

2. Metodologi

2.1. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi labu ukur, corong pisah, corong kaca, evaporator, pipet tetes, pipet volume, tabung reaksi, penangas air, pipet mikro, vortex, gelas kimia, Spektrofotometer UV-Vis Evolution 201 Thermo Scientific, neraca analitik merek Kern..

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi teknis dan pa seperti akuades, metanol, etil asetat, n-heksana, daun gaharu (*A. malaccensis*), natrium diklofenak, H₂SO₄, HCl(p), FeCl₃ 1%, Bovine Serum Albumin (BSA), Tris Buffer Saline (TBS), pereaksi Dragendroff,,NaOH, serbuk Mg.

2.2. Metode

Maserasi dan Ekstraksi

Sampel daun gaharu dideterminasi di laboratoium Anatomi dan Sistematika Tumbuhan FMIPA UNMUL dihaluskan kemudian, dimaserasi selama 3 x 24 jam dengan 5 liter metanol, dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat metanol.

Fraksinasi

Metode fraksinasi yang digunakan berdasarkan perbedaan kepolaran. Ekstrak pekat metanol disuspensi dengan akuades, lalu difraksinasi dengann-heksana. Pelarut n-heksana ditambahkan secara berulang-ulang hingga fraksi n-heksana bening kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan didapatkan hasil ekstrak fraksi n-heksana.

Setelah didapatkan fraksi n-heksana, fraksi metanol-air kembali difraksinasi dengan etil asetat secara berulang, kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi metanol-air, lalu dilakukan uji fitokimia setiap fraksi.

Uji fitokimia

Uji flavonoid menggunakan metode Wilstater, uji steroid/triterpenoid menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard, uji fenolik menggunakan pereaksi FeCl₃ 1%, uji alkaloid menggunakan pereaksi Dragendroff, kemudian uji saponin dilakukan dengan mencocok sampel dalam akuades lalu ditambahkan HCl.

Pengujian Aktivitas Antiinflamasi

a) Pembuatan Larutan BSA dalam TBS

Padatan BSA sebanyak 0,2 gram dilarutkan dengan sedikit akuades.dalam labu takar 100 ml. kemudian ditambahkan larutan TBS hingga tanda tera [5].

b) Pembuatan kontrol negatif

Sebanyak 50 µL pelarut etil asetat/metanol dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml. Kemudian dibahkan larutan BSA 0,2% dalam TBS hingga tanda tera [5].

c) Pembuatan kontrol positif

Natrium diklofenak dimasukkankan ke dalam labu ukur sebanyak 25 mg dan dilarutkan dengan akuades, diperoleh larutan induk 1000 ppm, lalu diencerkan dengan pelarut yang sesuai dengan variasi konsentrasi sebesar 50; 25; 12,5; 6,25 dan 3,13 ppm [5].

d) Pembuatan larutan uji

Sebanyak 25 mg ekstrak pekat metanol, fraksi metanol-air dan fraksi etil asetat daun gaharu, dilarutkan dengan pelarut yang sesuai dan diperoleh konsentrasi larutan induk 1000 ppm, lalu diencerkan dengan variasi konsentrasi sebesar 500; 250; 125; 62,5; 31,125 dan 15,625 ppm [5].

e) Uji aktivitas antiinflamasi

Sebanyak 50 µL diambil kontrol positif dan larutan uji, kemudian ditambahkan BSA 0,2% hingga 10 mL. Setelah itu, diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit, kemudian dipanaskan pada suhu $\pm 72^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit menggunakan *water bath*, lalu didinginkan 25 menit pada suhu ruang. Selanjutnya divorteks dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 660 nm [5].

f) Analisis Data

Persentase penghambatan denaturasi protein dikalkulasi dengan menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol negatif} - \text{Absorbansi larutan uji}}{\text{Absorbansi kontrol negatif}} \times 100 \% \quad (1)$$

bila % inhibisi > 20% maka sampel memiliki aktivitas antiinflamasi, kemudian dibuat persamaan regresi linear antara konsentrasi (X) dengan % inhibisi (Y) untuk mendapatkan nilai IC_{50} [6].

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder dari ekstrak dan fraksi daun gaharu ditunjukkan pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Kandungan metabolit sekunder pada ekstrak dan fraksi daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.)

Golongan senyawa	Ekstrak pekat metanol	Fraksi n-heksana	Fraksi etil asetat	Fraksi metanol-air
Alkaloid	-	-	-	-
Flavonoid	+	-	+	+
Triterpenoid	+	+	+	+
Steroid	+	+	+	-
Fenolik	+	-	+	+
Saponin	-	-	-	-

Keterangan:

(+) Mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) Tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Senyawa flavonoid dan fenolik terdapat pada ekstrak pekat metanol, fraksi etil asetat dan fraksi metanol-air sehingga dilanjutkan untuk uji antiinflamasi sedangkan fraksi n-heksana hanya mengandung triterpenoid dan steroid. Menurut Balafif [7] senyawa triterpenoid larut dalam pelarut polar yaitu golongan sikloartenol. Steroid terkandung pada ekstrak pekat, fraksi etil asetat dan metanol air karena bersifat non polar hingga semi polar. Golongan fenolik bersifat semi polar sampai polar sehingga dapat tertarik oleh pelarut etil asetat dan metanol.

Berdasarkan pada Tabel 3, hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak pekat metanol memiliki nilai IC_{50} 181,58 ppm yang mana masuk dalam kategori sedang dalam potensi aktivitas antiinflamasi. Fraksi etil asetat memiliki nilai IC_{50} 168,87 ppm yang mana masuk dalam kategori sedang dalam potensi aktivitas antiinflamasi. Fraksi metanol-air memiliki nilai IC_{50} 60,84 ppm yang mana masuk dalam kategori kuat dalam potensi aktivitas antiinflamasi sementara kontrol positif (natrium diklofenak) memiliki nilai IC_{50} sebesar 10,16 ppm.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antiinflamasi ekstrak dan fraksi daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk)

Sampel Uji	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Rata-rata	Inhibisi (%)	Regresi Linier	IC ₅₀ (ppm)
Ekstrak Peekat Metanol	Kontrol negatif	0,99	-	$y = 0,04x + 41,15$ $R^2 = 0,99$	181,58
	500	0,34	65,29		
	250	0,46	53,24		
	125	0,51	48,02		
	62,5	0,55	44,67		
	31,12	0,56	43,07		
Fraksi Etil Asetat	Kontrol negatif	0,99	-	$y = 0,09x + 33,31$ $R^2 = 0,98$	168,87
	500	0,20	79,69		
	250	0,39	60,15		
	125	0,54	45,12		
	62,5	0,59	40,68		
	31,12	0,63	36,13		
Fraksi metanol-air	Kontrol negatif	0,99	-	$y = 0,06x + 45,82$ $R^2 = 0,98$	60,84
	500	0,20	79,88		
	250	0,37	62,11		
	125	0,43	56,49		
	62,5	0,47	52,14		
	31,12	0,53	46,75		
Kontrol positif (Natrium Diklofenak)	Kontrol negatif	0,85	-	$y = 0,99x + 39,85$ $R^2 = 0,97$	10,16
	50	0,10	87,47		
	25	0,26	68,65		
	12,5	0,38	54,99		
	6,25	0,46	45,35		
	3,13	0,51	39,47		

Aktivitas antiinflamasi ekstrak dan fraksi diduga karena pada sampel mengandung senyawa flavonoid dan fenolik. Kontrol positif yaitu natrium diklofenak yang digunakan dalam penelitian ini memiliki aktivitas antiinflamasi yang sangat kuat. Natrium diklorofenak merupakan obat antiinflamasi yang telah diketahui kadarnya dan terbukti memiliki aktivitas antiinflamasi serta memiliki kemampuan untuk berikatan dengan residu triptofan pada BSA sehingga struktur protein menjadi lebih stabil apabila dipanaskan [8].

Tabel 3. Tingkatan kekuatan aktivitas antiinflamasi

No.	Konsentrasi IC ₅₀ (ppm)	Kategori
1.	< 50	Sangat kuat
2.	50-100	Kuat
3.	101-250	Sedang
4.	251-500	Lemah
5.	> 500	Tidak aktif

Berdasarkan penelitian Morshed [9] efek antiinflamasi dapat berasal dari senyawa metabolit sekunder flavonoid, dan. Kekuatan aktivitas antiinflamasi juga bergantung dari banyaknya senyawa aktif yang terkandung dalam sampel [10].

4. Kesimpulan

Ekstrak pekat metanol dan fraksi etil asetat daun gaharu memiliki potensi sebagai antiinflamasi sedang dengan nilai IC₅₀ masing-masing 181,5811 ppm dan 168,8727 ppm, fraksi metanol-air berpotensi sebagai antiinflamasi kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 60,8454 ppm.

References

- [1] R. Nurmalina, "Herbal Legendaris Untuk Kesehatan Anda," Elex Media Komputindo; Jakarta, 2012.
- [2] Gusmailina, "Peningkatan Mutu pada Gaharu Kualitas Rendah," *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, vol. 28 no. 3, pp. 291-303, Sep. 2010, doi: [10.20886/jphh.2010.28.3.291-303](https://doi.org/10.20886/jphh.2010.28.3.291-303)
- [3] A. Suhardiman and J. Dadang, "Pengembangan obat herbal fraksi daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) dalam bentuk gel untuk penyembuhan luka bakar," *Jurnal Sains Dan Teknologi Farmasi Indonesia*. Vol. VIII, no. 1, 2019. [Online]. Available: <http://download.garuda.kemdikbud.go.id/article=3249671>
- [4] B. N. Shah, A. K. Seth, and K. M. Maheshwari, "A Review On Medical Plants As Source of Anti-Inflammatory Agents". *Research Journal of Medicinal Plant*, vol. 5, no. 2, pp. 101-111, 2011.
- [5] L. A. D. Williams *et al.*, "The In Vitro Anti-Denaturation Effects Induced By Natural Products and Non-Steroidal Compounds In Heat Treated (Immunogenic) Bovine Serum Albumin Is Proposed as A Screening Assay for The Detection of Anti-Inflammatory Compounds Without The Us of Animals In The Early Stage of The Drugs Discovery Process," *West Indian Med J*, vol. 57, no. 04, pp. 327-331, 2008.
- [6] Y. Farida, D. Rahmat, and A. W. Amanda, "Anti-Inflammation Activity Test of Nanoparticles Ethanol Extract of Temulawak Rhizome (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) with Protein Denaturation Inhibition Method," *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, vol. 16, no. 2, pp. 225-230, Oct. 2018, doi: [10.35814/jifi.v16i2.569](https://doi.org/10.35814/jifi.v16i2.569).
- [7] R. Abd. R. Balafif, Y. Andayani, and E. R. Gunawan, "Analisis Senyawa Triterpenoid Dari Hasil Fraksinasi Ekstrak Air Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn)," *Chemistry Progress*, vol. 6, no. 2, Jan. 2013, doi: [10.35799/cp.6.2.2013.3495](https://doi.org/10.35799/cp.6.2.2013.3495).
- [8] M. P. Czub, K. B. Handing, B. S. Venkataramany, D. R. Cooper, I. G. Shabalin, and W. Minor, "Albumin-Based transport of nonsteroidal Anti-Inflammatory drugs in mammalian blood plasma," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 63, no. 13, pp. 6847-6862, May 2020, doi: [10.1021/acs.jmedchem.0c00225](https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00225).
- [9] M. A. Morshed, "Evaluation of Analgesic and Anti-Inflammatory Effect of Terminalia Arjuna Ethanol Extract," *IJPSR*, vol. 2, no. 10, pp. 2577-2585, 2011
- [10] Siswenty, P.W., Wibowo, M.A dan harlia. (2017). "Aktivitas Toksisitas Antioksidan dan Antiinflamasi Secara In Vitro Dari Ekstrak metanol Daun Manga Bacang (*Mangifera foetida* L)". *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, vol. 6, no. 1, 42-49, 2017. [Online]. Available: <https://jurnal.untan.ac.id/view/18078>