

UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI DARI EKSTRAK METANOL DAUN KENITU (*Chrysopyllum cainito* L.) SECARA *IN VITRO*

Nur Hidayah, Chairul saleh, Djihan Ryn Pratiwi

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman,
Jl. Barong Tongkok, Kampus Unmul Gunung Kelua, Samarinda, Kalimantan Timur, 75119

Email korespondensi: sukma.nurlaily03@gmail.com

Diterbitkan: 01 Maret 2023

ABSTRAK

Uji aktivitas antiinflamasi dari ekstrak metanol daun kenitu (*Chrysopyllum cainito* L) secara *in vitro* telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi dari ekstrak pekat metanol daun kenitu dengan metode penghambatan denaturasi protein. Protein yang digunakan adalah BSA (*Bovine serum albumin*). Kontrol positif yang digunakan adalah natrium diklofenak dan kontrol negatif sesuai dengan pelarut yang digunakan. Hasil skrining fitokimia pada ekstrak pekat metanol diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder Flavanoid, alkaloid dan fenolik. Hasil uji aktivitas antiinflamasi ekstrak pekat metanol menunjukkan potensi sebagai antiinflamasi kategori sedang dengan nilai IC_{50} sebesar 196,29 ppm

Kata kunci: *Chrysopyllum cainito* L, Metabolit Sekunder, Antiinflamasi, Inhibition Concentration 50%

ABSTRACT

Antiinflammatory activity tests of extract and fractions of kenitu Leaves (*Chrysopyllum cainito* L) *in vitro* were carried out. This research aimed to determine the anti-inflammatory activity of crude extract methanol of kenitu leave with protein denaturation inhibition method by using BSA (*Bovine serum albumin*). 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, alkaloids and phenolics. The results of the anti-inflammatory activity test of methanol extract have moderate anti-inflammatory potential with an IC_{50} value of 196,29 ppm.

Keywords: *Chrysopyllum cainito* L, Secondary metabolites, Anti-inflammatory, 50% inhibition concentration.

PENDAHULUAN

Bahan alam saat ini semakin banyak dimanfaatkan sebagai obat atau tujuan lainnya. Terlebih lagi dengan adanya isu *back to nature* dan krisis yang berkepanjangan mengakibatkan turunnya daya beli masyarakat. Hal ini dapat dilihat dengan banyaknya masyarakat global untuk kembali ke alam dalam hal antitumor, anti-inflamasi, penyakit kulit dan pengobatan penyakit lainnya [1]. Inflamasi merupakan suatu respon protektif normal tubuh yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia yang merusak atau zat-zat mikrobiologi terhadap luka jaringan [2].

Tanaman kenitu memiliki beberapa kandungan seperti flavonoid, terpenoid, polifenol, steroid, tanin dan fenolik. Hal ini dapat dilihat dari penelitian sebelumnya kandungan daun kenitu terdiri dari B-amyrin asetat,

flavonoid, asam galat, asam ursolat yang terbukti memiliki khasiat sebagai antioksidan, antibakteri dan anti-inflamasi. Daun kenitu berkhasiat sebagai penyembuhan luka, sementara itu dekok batang yang banyak mengandung tannin berfungsi sebagai stimulan, tonik, obat disenti dan infeksi saluran kemih. Bijinya digunakan sebagai tonik diuretik dan penurun panas. Buah kenitu yang bergetah digunakan untuk mengobati inflamasi pada *laryngitis* dan pneumonia [3].

Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian terhadap aktivitas anti-inflamasi pada tanaman kenitu (*Chrysopyllum cainito* L.) dengan metode penghambatan denaturasi protein.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni 2022-September 2022 di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Anatomi dan Sistematika Tumbuhan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman serta Laboratorium Biokimia.

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah gelas kimia, corong pisah, corong kaca, *rotary evaporator*, labu ukur, neraca analitik, pipet volume, pipet tetes, wadah sampel, wadah maserasi, oven, tabung reaksi, Spektrofotometer UV-Vis, penangas air, vortex dan gelas ukur.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kenitu, metanol, aquades, n-heksan, etil asetat, *Bovine Serum Albumine* (BSA), natrium diklofenak, larutan HCl_(p), larutan H₂SO_{4 (p)}, serbuk Mg, pereaksi dragendroff, larutan NaOH, pH meter dan larutan FeCl₃.

Prosedur Penelitian

Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun kenitu (*Chrysopyllum Cainito L.*) yang diambil di halaman sekolah SMA Lempake Samarinda. Selanjutnya dideterminasi oleh Laboratorium Anatomi dan Sistematika Tumbuhan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman. Kemudian tulang daun kenitu dipisahkan dari daun kemudian daun dicuci dengan air mengalir, setelah bersih dikering anginkan kemudian dihaluskan menggunakan blender dan siap dimaserasi.

Ekstraksi

Sebanyak 1000 gram serbuk daun kenitu kering diekstraksi dengan 3000 mL pelarut metanol selama 3x24 jam. Residu yang diperoleh dimaserasi sebanyak 4 kali. Kemudian dilakukan penyaringan antara residu dengan filtrat. Filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C sehingga diperoleh ekstrak metanol pekat berwarna hijau.

Uji Fitokimia

Uji Alkaloid

Ekstrak pekat metanol daun kenitu

sebanyak 1 mL dilarutkan menggunakan pelarut yang sesuai. kemudian ditambahkan 5 tetes H₂SO₄ 2 N dan 2 tetes pereaksi Dragendroff. Uji positif alkaloid diketahui apabila membentuk endapan jingga hingga merah kecoklatan [4].

Uji Flavanoid

Ekstrak pekat metanol daun kenitu sebanyak 1 mL dilarutkan menggunakan pelarut yang sesuai di dalam tabung reaksi. kemudian ditambahkan 2 mg serbuk Mg dan 3 tetes larutan HCl_(p) uji positif flavonoid diketahui apabila terjadi perubahan warna sampel menjadi merah, kuning atau jingga.

Uji Steroid dan Triterpenoid

Ekstrak pekat metanol daun kenitu sebanyak 1 mL dilarutkan dengan pelarut yang sesuai di dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi Liebermann-Burchard (campuran asam asetat anhidrat dan H₂SO_{4(p)}). Uji positif diketahui apabila terjadi perubahan warna sampel menjadi merah atau ungu.

Uji Fenolik

Ekstrak pekat metanol daun kenitu sebanyak 1 mL dilarutkan dengan pelarut yang sesuai di dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan larutan FeCl₃ 1%. Hasil uji positif diketahui apabila terjadi perubahan warna sampel menjadi merah, hitam, hijau, biru atau ungu pekat.

Uji Saponin

Ekstrak pekat metanol sebanyak 1 mL dilarutkan dengan pelarut yang sesuai di dalam tabung reaksi. Kemudian dilarutkan dengan 2 mL aquades lalu dikocok sampai terbentuk busa. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan HCl_(p). Uji positif saponin diketahui apabila terbentuk busa dengan tinggi 1-3 cm dan bertahan selama ± 15 menit [5].

Pengujian Aktivitas Antiinflamasi

Pembuatan Larutan BSA

Larutkan 0,2 gram *bovine serum albumine* dengan sedikit aquades, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Kemudian ditambahkan larutan TBS hingga tanda tera dan dihomogenkan.

Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Pelarut metanol sebanyak 50 µL dimasukkan kedalam labu ukur 5 mL. Ditambahkan larutan BSA 0,2 % dalam TBS hingga tanda tera lalu dihomogenkan.

Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Natrium diklofenak sebanyak 25 miligram dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL. Ditambahkan aquades hingga tanda tera dan dihomogenkan. Didapatkan larutan induk 1000 mg/L. Kemudian diencerkan dengan pelarut yang sesuai dalam labu ukur 10 mL dengan variasi konsentrasi sebesar 25; 12,5; 6,25; dan 3,13 mg/L.

Pembuatan Larutan Uji

Sebanyak 25 mg ekstrak pekat metanol daun kenitu dilarutkan dengan sedikit pelarut yang sesuai dalam labu ukur 25 mL. Ditambahkan pelarut sesuai fraksi hingga tanda tera dan dihomogenkan sehingga didapatkan konsentrasi larutan induk sebesar 1000 ppm. Kemudian diencerkan dengan pelarut yang sesuai dalam labu ukur 10 mL dengan konsentrasi variasi sebesar 250; 125; 62,5 dan 31,3 ppm.

Uji Aktivitas Antiinflamasi

Larutan kontrol positif dan larutan uji diambil sebanyak 50 µL lalu ditambahkan BSA 0,2 % hingga volume menjadi 10 mL. Larutan tersebut diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit, kemudian dipanaskan menggunakan *waterbath* pada suhu ± 72 °C selama 5 menit. Larutan didinginkan pada suhu ruang selama 25 menit, setelah dingin larutan kontrol positif dan larutan uji divorteks dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimal 660 nm.

Teknik Analisis Data

Untuk mengetahui persentase penghambatan denaturasi protein dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol negatif} - \text{Absorbansi larutan uji}}{\text{Absorbansi kontrol negatif}} \times 100\%$$

Apabila % inhibisi > 20% artinya memiliki aktivitas antiinflamasi. Nilai IC₅₀ dihitung dengan membuat persamaan regresi linear antara konsentrasi (x) dengan % inhibisi (y) [6].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel dan Ekstraksi

Hasil ekstraksi daun kenitu (*Chrysopyllum cainito* L.) dapat dilihat pada **tabel 1**.

Tabel 1. Hasil ekstraksi daun kenitu (*Chrysopyllum cainito* L.)

Ekstrak	Massa (gram)	Rendemen(%)
Ekstrak pekat metanol	126	12,6

Analisis Skrining Fitokimia

Hasil uji fitokimia dapat dilihat pada **tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Analisis Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Daun Kenitu (*Chrysopyllum cainito* L.)

Golongan Senyawa	Ekstrak Pekat Metanol
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Triterpenoid	+
Steroid	+
Fenolik	+
Saponin	-

Keterangan:

- (+) = Mengandung senyawa metabolit sekunder
- (-) = Tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Skrining fitokimia ekstrak metanol daun kenitu memiliki beberapa senyawa aktif seperti senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, fenolik dan steroid. Adanya senyawa ini merupakan kemungkinan adanya aktivitas senyawa biologis dari ekstrak metanol daun kenitu.

Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak dan Fraksi Daun Kenitu (*Chrysopyllum cainito* L.)

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, hasil yang diperoleh pada uji aktivitas antiinflamasi ekstrak dan fraksi daun kenitu ditunjukkan pada tabel 3.

Berdasarkan data pada Tabel 3, potensi antiinflamasi pada ekstrak metanol daun kenitu ditunjukkan pada masing-masing konsentrasi 31,30; 62,25; 125; 250 ppm dengan nilai persen inhibisi denaturasi protein pada larutan uji lebih besar dari 20%. Persentase inhibisi tertinggi Natrium diklofenak pada konsentrasi 20 ppm sebesar 67,59%, persentase inhibisi tertinggi ekstrak pekat metanol pada konsentrasi 250 ppm sebesar 51,90%,

Nilai % inhibisi ini yang digunakan dalam penentuan persamaan regresi linier agar didapatkan nilai IC₅₀. Berdasarkan data tersebut,

menunjukkan bahwa kemampuan penghambatan denaturasi protein dari ekstrak metanol daun kenitu berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi ekstrak pekat metanol. Semakin tinggi konsentrasi dari ekstrak metanol menunjukkan

semakin tinggi pula persentase penghambatan denaturasi protein, berdasarkan pada data % inhibisi didapatkan nilai inhibition concentration 50% dari ekstrak pekat metanol sebesar 196,29 ppm.

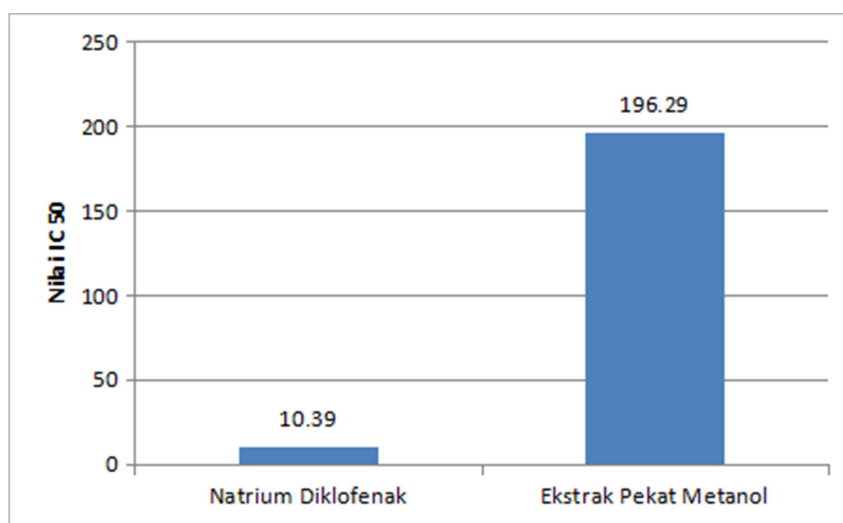
Tabel 3. Hasil uji aktivitas antiinflamasi ekstrak dan fraksi daun kenitu (*Chrysopyllum cainito L*)

Sampel Uji	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Rata-rata	Inhibisi (%)	IC ₅₀ (ppm)
Ekstrak Pekat Metanol	Kontrol negatif	0,840	-	196,29
	250	0,404	51,90	
	125	0,446	46,90	
	62,5	0,452	46,19	
	31,30	0,455	45,83	
Kontrol positif (Natrium Diklofenak)	Kontrol negatif	0,858	-	10,39
	25	0,278	67,59	
	12,5	0,385	55,12	
	6,25	0,494	43,82	
	3,13	0,513	40,20	

Berdasarkan penelitian yang dilakukan pada kontrol positif (natrium diklofenak) pada konsentrasi 3,13; 6,25; 12,5 serta 25 ppm kontrol positif (natrium diklofenak) diperoleh persamaan regresi linier $y = 1,2669x + 36,835$ sehingga bisa dihitung nilai x yang ialah nilai IC₅₀ adalah sebesar 10,39 ppm.

Natrium diklofenak memiliki aktivitas

antiinflamasi yang kuat karena memiliki kemampuan untuk berikatan dengan residu triptofan pada *bovine serum albumin* sehingga struktur protein menjadi lebih stabil dan tidak terdenaturasi ketika dipanaskan [7]. Nilai IC₅₀ dari ekstrak pekat metanol dan kontrol positif dengan metode penghambatan denaturasi protein terdapat pada **gambar 1**.



Gambar 1. Grafik perbandingan nilai IC₅₀ ekstrak metanol daun kenitu (*Chrysopyllum Cinito L*) dan natrium diklofenak

Berdasarkan pada gambar 1 dapat disimpulkan bahwa ekstrak pekat metanol memiliki nilai aktivitas antiinflamasi sedang

dengan nilai IC₅₀ sebesar 196,29 ppm sementara Natrium diklofenak (kontrol positif) memiliki nilai IC₅₀ sebesar 10,53 ppm. Jika nilai IC₅₀

semakin kecil maka kekuatan aktivitas antiinflamasi yang dimiliki semakin besar [8].

SIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat di peroleh kesimpulan yaitu pada ekstrak pekat metanol mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, triterpenoid, steroid, alkaloid dan fenolik dan ekstrak pekat metanol berpotensi sebagai antiinflamasi sedang dengan nilai IC₅₀ sebesar 196,29 ppm

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui berbagai efek farmakologi daun *Chrysopyllum cainito* L sehingga dapat ditentukan komposisi zat aktif yang sesuai dengan efek farmakologi yang diinginkan dan perlu dilakukan senyawa aktif, karakterisasi pada daun *Chrysopyllum cainito* L serta dilakukan uji aktivitas antiinflamasi secara *in vivo*

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Katno, Pramono S. Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Balai Penelitian Obat Tawangmangu, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada [press release]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- [2] Mycek, M. J, Harvey, R.A. dan Champe, P.C., 2001, Farmakologi Ulasan Bergambar 2nd ed.H. Hartanto, ed., Jakarta, Widya Medika.
- [3] Morton, J. 1987. *Star Apple*, in: Morton, J., *Fruits of Warm Climates*, Miami Florida. 408-410.
- [4] Sitorus, M. 2010. *Kimia Organik Umum*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- [5] Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Edisi Kedua*. Bandung: Penerbit ITB.
- [6] Williams, L.A.D., Connar, A.O., Latore, L., Dennis, O., Ringer, S., Rosner, H dan Kraus, W. 2008. "The *In Vitro* Anti-Denaturation Effects Induced By Natural Products and Non-Steroidal Compounds In Heat Treated (Immunogenic) Bovine Serum Albumine Is Proposed as A Screening Assay for The Detection of Anti-Inflammatory Compounds Without The Use of Animals In The Early Stage of The Drugs Discovery Process". West Indian Med J. 57(04), 327.
- [7] Czub, M. P., Handing, K. B., Venkataramany, B. S., Cooper, D. R., Shabalin, I. G., & Minor, W. (2020). Albumin-Based Transport of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs in Mammalian Blood Plasma. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(13), 6847–6862. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00225>
- [8] Abidin, Z., Putri, U.A dan Widiastuti, H. 2019. "Potensi Antiinflamasi Fraksi Etil Asetat Ranting Patah Tulang (*Euphorbia Tirucalli* L) dengan Uji Penghambatan Denaturasi Protein". Ad-Dawa Jurnal Farmasi. 2(2).