

Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Benalu Batu (*Paraboea kalimantanensis*) dengan Metode Penghambat Denaturasi Protein

Phytochemical Screening and Anti-Inflammatory Activity Test of Ethanolic Extract of Benalu Batu (*Paraboea kaliamantanensis*) Leaves Using Protein Denaturation Inhibition Method

Fachrurazy¹

Sutomo^{2*}

Arnida³

¹Program Studi Farmasi,
FMIPA, Universitas Lambung
Mangkurat, Banjarbaru,
Kalimantan Selatan, Indonesia

²Pusat Studi Obat Berbasis
Bahan Alam, Universitas
Lambung Mangkurat,
Banjarbaru, Kalimantan Selatan,
Indonesia

³Bagian Biologi Farmasi, FMIPA,
Universitas Lambung
Mangkurat, Banjarbaru,
Kalimantan Selatan, Indonesia

*email: sutomo01@ulm.ac.id

Abstrak

Benalu batu (*Paraboea kalimantanensis*) merupakan salah satu tumbuhan yang digunakan oleh masyarakat Kalimantan sebagai obat-obatan. Secara empiris, masyarakat menggunakan air rebusan daun *P. kalimantanensis* sebagai obat antikanker, penurun kolesterol, penurun gula darah, dan campuran dengan bunganya digunakan untuk meningkatkan stamina. Salah satu penyebab kanker adalah inflamasi yang terjadi secara kronis. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan skrining fitokimia dan uji aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun *P. kalimantanensis* berdasarkan nilai IC₅₀ dan dibandingkan dengan natrium diklofenak sebagai kontrol positif. Skrining fitokimia dilakukan dengan metode uji tabung dan aktivitas antiinflamasi ditentukan secara *in vitro* menggunakan metode uji penghambatan denaturasi protein. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa dalam ekstrak etanol daun *P. kalimantanensis* mengandung beberapa metabolit sekunder seperti golongan alkaloid, steroid, tanin, fenolik, flavonoid, dan saponin. Hasil uji aktivitas antiinflamasi menunjukkan nilai IC₅₀ natrium diklofenak dan ekstrak etanol daun *P. kalimantanensis* berturut-turut sebesar 29,911 ppm dan 22,530 ppm. Hasil tersebut menunjukkan ekstrak etanol daun *P. kalimantanensis* memiliki aktivitas antiinflamasi yang lebih baik dibandingkan dengan natrium diklofenak. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna nilai IC₅₀ setiap sampel jika dibandingkan dengan natrium diklofenak dengan nilai signifikansi 0,05 (p ≤ 0,05).

Kata Kunci:

Benalu Batu
Paraboea kalimantanensis
Skrining Fitokimia
Antiinflamasi
Denaturasi Protein

Keywords:

Benalu Batu
Paraboea kalimantanensis
Phytochemical Screening
Antiinflammatory
Protein Denaturation

Abstract

*Benalu batu (Paraboea kalimantanensis) is one of the plants used as medicine by the people of Kalimantan. Empirically, people use infusion of *P. kalimantanensis* leaves as an anti-cancer drug, anti-cholesterol, anti-diabetes, and a mixture with the flowers is used to increase stamina. One of the causes of cancer is chronic inflammation. The aim of this study was to determine the results of phytochemical screening and to determine the anti-inflammatory activity of extracts of *P. kalimantanensis* leaves based on IC₅₀ values and compared with diclofenac sodium as a positive control. The phytochemical screening was carried out using the tube test method and the anti-inflammatory activity was determined in vitro using the protein denaturation inhibition test method. The results of phytochemical screening are extracts of *P. kalimantanensis* leaves contain various secondary metabolites such as alkaloids group, steroids group, tannins group, phenolic group, flavonoids group, and saponins group. The anti-inflammatory activity test results showed that the IC₅₀ values of diclofenac sodium and ethanol extract of *P. kalimantanensis* leaves were 29,911 ppm and 22,530 ppm, respectively. These results indicate that the ethanol extract of *P. kalimantanensis* leaves have better anti-inflammatory activity compared to diclofenac sodium. Statistical test results show that there is a significant difference in the IC₅₀ value of each sample compared to diclofenac sodium with a significance value of 0.05 (p ≤ 0.05).*



© 2025 The Authors. Published by Institute for Research and Community Services Universitas Muhammadiyah Palangkaraya.
This is Open Access article under the CC-BY-SA License (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>). DOI:
<https://doi.org/10.33084/jsm.v1i1.10574>

PENDAHULUAN

Salah satu keunggulan bangsa Indonesia yaitu keanekaragaman hayati yang berlimpah yang tersebar di

berbagai habitat. Indonesia memiliki hutan tropis dengan jumlah tumbuhan lebih dari 30.000 spesies. Sebanyak 9.600 spesies tumbuhan berkhasiat obat telah diketahui

dan sekitar 200 spesies diantaranya digunakan oleh industri obat tradisional (Rahmawati & Kurniawati, 2016). Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), sekitar 80% penduduk dunia bergantung pada pengobatan tradisional, termasuk penggunaan obat herbal (WHO, 2013). Tumbuhan menghasilkan senyawa metabolit sekunder diantaranya adalah golongan alkaloid, flavonoid, tanin, steroid/terpenoid, glikosida, dan saponin. Golongan senyawa tersebut umumnya memiliki bioaktifitas yang dapat digunakan sebagai pengobatan berbagai jenis penyakit pada manusia (Agustina et al., 2016). Salah satu tumbuhan yang biasa digunakan oleh masyarakat sebagai obat adalah benalu batu (*Paraboea kalimantanensis*).

Tumbuhan *P. kalimantanensis* (Gambar 1) merupakan salah satu tumbuhan asal Kalimantan yang secara empiris digunakan oleh masyarakat untuk mengobati kanker, tumor, diabetes, maag, asam urat, kolesterol, rematik, dan lain-lain. Masyarakat menggunakan rebusan dari daun, batang, akar, dan bunga tumbuhan *P. kalimantanensis* sebagai obat untuk kanker (Mulia, 2022). Inflamasi sering dikaitkan dengan perkembangan kanker dan dianggap sebagai faktor penting dalam proses tersebut. Sel-sel yang bertanggung jawab untuk inflamasi terkait kanker secara genetik stabil, sehingga tidak rentan terhadap resistensi obat yang cepat muncul. Dengan demikian penargetan inflamasi dianggap sebagai strategi menarik baik untuk mencegah kanker maupun untuk mengobatinya (Singh et al., 2019).

Inflamasi merupakan respons jaringan pelindung tubuh terhadap kerusakan jaringan yang berfungsi untuk memusnahkan atau memperlambat agen penyebab jaringan yang terluka (Ellulu et al., 2017). Potensi aktivitas antiinflamasi dapat terlihat dari kemampuan suatu zat dalam menghambat denaturasi protein. Obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) yang digunakan secara klinis sebagai pengobatan utama untuk inflamasi dapat menghambat denaturasi protein (Henneh et al., 2018). Meskipun obat antiinflamasi golongan nonsteroid

memiliki manfaat terapeutik yang luas, NSAID mempunyai beberapa efek samping yang parah meliputi toksitas gastrointestinal, risiko kardiovaskular, cedera ginjal, hepatotoksitas, hipertensi, dan gangguan ringan lainnya (Bindu et al., 2020). Pemanfaatan tumbuhan obat merupakan salah satu alternatif dalam mengurangi efek samping ketika digunakan secara benar.

Tumbuhan *P. kalimantanensis* mengandung beberapa golongan senyawa kimia diantaranya adalah golongan alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid, steroid, fenolik, dan tanin (Mulia, 2022). Beberapa senyawa seperti flavonoid, tanin, dan steroid memiliki potensi sebagai antiinflamasi karena kemampuannya untuk menghambat denaturasi protein dalam tubuh (Fridiana, 2012). Lingkungan tempat tumbuh yang berbeda pada tumbuhan dapat mempengaruhi senyawa aktif baik kualitatif maupun kuantitatif. Oleh karena itu, diperlukan penelitian tentang skrining fito kimia dan uji aktivitas antiinflamasi dengan metode penghambatan denaturasi protein pada ekstrak etanol secara kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Ekstrak etanol umumnya mengandung semua jenis senyawa baik polar maupun non polar.

Denaturasi protein merupakan salah satu penyebab inflamasi, dimana terjadi kerusakan struktur sekunder, tersier, dan kuarter pada protein akibat pemanasan atau zat pendenatur yang mengakibatkan hilangnya fungsi biologisnya (Farida et al., 2018). Pengujian antiinflamasi menggunakan metode *in vitro* memiliki beberapa keunggulan seperti tidak membutuhkan banyak sampel, tidak memakan waktu lama, dan tidak perlu melibatkan hewan uji (Ikrom et al., 2014). Data hasil uji aktivitas antiinflamasi secara kuantitatif diharapkan dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut. Tumbuhan yang diteliti disajikan pada gambar 1.



Gambar 1. (a) tumbuhan *P. kalmantanensis*; (b) permukaan atas daun; (c) bunga (Koleksi Pribadi, 2023)

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi ayakan 14 mesh (Retsch), blender, cawan porselen, corong pisah (Pyrex), hotplate stirrer (Stuart), inkubator (Memmert), alat-alat gelas (Pyrex), lemari pendingin, maserator, mikropipet (Socorex), oven, pH meter (ATC), propipet, rotary evaporator (IKA® RV 10), spektrofotometer UV-Vis (PerkinElmer), timbangan analitik (Ohauss), dan waterbath (Memmert).

Bahan penelitian yang digunakan yaitu asam asetat glasial (pa), akuades, *bovine serum albumin* (Himedia), etanol 96% (Merck), etil asetat (Merck), FeCl₃, gelatin 10%, HCl, *n*-butanol (Merck), *n*-heksana (Merck), NaCl (Merck), natrium diklofenak (Aarti Drugs Limited), Dragendorff, Liberman-Buchard, Mayer, serbuk magnesium (Mg), daun *P. kalmantanensis*, dan triss base (Merck).

Pengumpulan bahan

Pengumpulan sampel daun *P. kalmantanensis* dilakukan pada bulan Mei 2023 di Kecamatan Mantewe, Kabupaten Tanah Bumbu, Kalimantan Selatan. Daun *P. kalmantanensis* yang diambil sebagai sampel adalah daun dewasa berwarna hijau yang masih segar.

Determinasi tumbuhan

Determinasi tumbuhan dilakukan di Kebun Raya Banua Kota Banjarbaru, Kalimantan Selatan. Adapun bagian tumbuhan yang digunakan untuk determinasi meliputi bunga, daun, dan tangkai daun dalam bentuk herbarium.

Pengolahan serbuk simplisia daun *P. kalmantanensis*

Dilakukan sortasi basah untuk memisahkan daun dari kotoran atau bahan asing lainnya yang harus dibuang. Selanjutnya, daun dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang menempel. Daun dipotong-potong kecil untuk memudahkan proses pengeringan. Proses pengeringan dilakukan dengan menggunakan lemari pengering pada suhu 55°C. Serbuk simplisia disortir untuk memisahkan dari kotoran yang masih tersisa. Setelah itu, simplisia daun dihaluskan dengan blender lalu diayak dengan ayakan 14 mesh.

Pembuatan ekstrak etanol daun *P. kalmantanensis*

Metode maserasi digunakan untuk mengekstraksi daun *P. kalmantanensis* dengan menggunakan etanol 96% sebagai cairan penyari. Sebanyak 250 g serbuk simplisia daun *P. kalmantanensis* dimasukkan ke dalam maserator dan ditambahkan etanol 96% hingga simplisia terendam. Pengadukan dilakukan setiap 8 jam dan sampel disimpan pada suhu kamar. Ekstraksi dilakukan selama 6 × 24 jam dengan melakukan remerasi atau pergantian pelarut setiap 1 × 24 jam. Ekstrak cair dipekatkan dengan rotary evaporator selanjutnya diuapkan menggunakan waterbath dengan suhu 50°C sampai diperoleh bobot tetap. Persentase rendemen ekstrak dihitung dengan rumus berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat simplisia awal}} \times 100\%$$

(Kemenkes RI, 2017).

Skrining fitokimia

Dibuat larutan sampel dengan menimbang 2 g sampel dan dilarutkan dalam 100 mL etanol (p.a).

Identifikasi alkaloid

Larutan sampel dibagi kedalam 2 tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 mL. Tabung pertama ditambahkan pereaksi Mayer sebanyak 5 tetes, hasil positif adanya alkaloid ditandai dengan endapan putih kekuningan.

Tabung kedua ditambah reagen Dragendorff sebanyak 5 tetes, hasil positif adanya alkaloid ditandai dengan endapan jingga (Vernanda et al., 2019).

Identifikasi terpenoid dan steroid

Sebanyak 5 mL larutan sampel dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan reagen Lieberman Burchard sebanyak 1 mL. Hasil positif adanya terpenoid ditandai dengan adanya perubahan warna merah atau ungu, sedangkan adanya steroid ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau kebiruan (Vernanda et al., 2019).

Identifikasi tanin

Sebanyak 5 mL larutan sampel dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan gelatin 10% sebanyak 1 mL. Hasil positif adanya tanin ditandai dengan terbentuknya endapan putih (Samodra, 2019).

Identifikasi fenolik

Sebanyak 5 mL larutan sampel dimasukkan dalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan FeCl_3 . Hasil positif adanya fenolik jika terbentuk warna menjadi biru kehitaman atau hijau (Samodra, 2019; Wirasti, 2019).

Identifikasi flavonoid

Sebanyak 5 mL larutan sampel dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat. Hasil positif adanya flavonoid jika terbentuk warna jingga, kuning atau merah (Depkes RI, 2008; Wirasti, 2019).

Identifikasi saponin

Ekstrak ditimbang sebanyak 1 g lalu ditambahkan air panas sebanyak 10 mL kemudian didinginkan. Larutan kemudian dikocok kuat-kuat setelah itu ditambahkan HCl 2 N 1 tetes. Jika terbentuk buih stabil tidak kurang selama 10 menit dengan setinggi 1-10 cm maka positif mengandung saponin (Vernanda et al., 2019).

Uji *in vitro* aktivitas antiinflamasi

Pembuatan larutan TBS (*Triss Buffer Saline*)

Larutan TBS dibuat dengan mencampurkan 4,35 gram NaCl ke dalam 200 mL aquadest. Selanjutnya 605 mg triss buffer ditambahkan ke dalam campuran tersebut lalu diencerkan dengan menambahkan lagi 200 mL aquadest. pH larutan kemudian diatur hingga mencapai pH patologis 6,2 dengan menambahkan sedikit asam asetat glasial, dan akhirnya diencerkan kembali dengan menambahkan 100 mL aquadest (Reynaldi & Yani, 2021).

Pembuatan larutan BSA (*Bovine Serum Albumin*) 0,2%

Pembuatan larutan BSA 0,2% dilakukan dengan cara sebanyak 0,2 gram BSA (*bovine serum albumin*) dimasukkan ke dalam labu ukur berukuran 100 mL. Selanjutnya, larutan triss buffer saline ditambahkan ke dalam labu ukur tersebut hingga mencapai volume 100 mL (Reynaldi & Yani, 2021).

Pembuatan larutan kontrol negatif

Sebanyak 500 μL metanol diambil kemudian ditambahkan larutan BSA 0,2% ke masing-masing labu ukur hingga volume 5 mL (Williams et al., 2008; Farida et al., 2018).

Pembuatan larutan uji dan kontrol positif natrium diklofenak

Ekstrak, masing-masing fraksi, dan natrium diklofenak sebanyak 50 mg dilarutkan dengan metanol sebanyak 25 mL. Konsentrasi yang didapatkan yaitu 2000 ppm sebagai larutan induk. Kemudian larutan induk masing-masing dibuat seri konsentrasi menjadi 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm (Kanjikar et al., 2017). Natrium diklofenak dipilih sebagai kontrol positif karena dapat memberikan efek antiinflamasi yang cepat. Selain itu, obat ini termasuk dalam golongan antiinflamasi nonsteroid yang bekerja secara

nonselektif, serta memiliki kelarutan yang baik dalam air maupun pelarut organik (Novika et al., 2021).

Pengukuran aktivitas antiinflamasi

Sebanyak 500 µL larutan uji dan kontrol positif natrium diklofenak diambil dari masing-masing konsentrasi larutan dan ditambahkan larutan BSA 0,2% hingga volume mencapai 5 mL dalam labu ukur. Konsentrasi yang dihasilkan adalah 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100 ppm. Selanjutnya larutan ekstrak, kontrol positif, dan kontrol negatif diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit lalu dipanaskan pada suhu 70°C selama 5 menit dan didiamkan hingga dingin. Larutan dikocok kuat untuk menghindari penggumpalan saat pembacaan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 660 nm, karena panjang gelombang maksimum dari protein adalah 660 nm (Williams et al., 2008; Kanjikar et al., 2017).

Perhitungan % penghambatan denaturasi protein

Persentase penghambatan denaturasi protein diukur dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

% inhibisi =

$$\frac{\text{absorbansi kontrol negatif} - \text{absorbansi larutan uji}}{\text{absorbansi kontrol negatif}} \times 100\%$$

Senyawa yang menghambat denaturasi protein lebih besar dari 20% dianggap memiliki sifat antiinflamasi dan dapat digunakan sebagai nilai acuan untuk pengembangan obat (Williams et al., 2008).

Perhitungan nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ dihitung dengan metode regresi probit menggunakan aplikasi IBM SPSS Statistics 25. Data yang digunakan untuk analisis tersebut adalah konsentrasi, absorbansi sampel dan absorbansi kontrol. Nilai IC₅₀ adalah bilangan yang menunjukkan konsentrasi (ppm) yang bisa menghambat sebesar 50% denaturasi protein, sehingga nilai konsentrasi yang memiliki probability 50% (0,5) merupakan nilai IC₅₀. Aktivitas antiinflamasi

semakin besar apabila nilai IC₅₀ yang didapatkan semakin kecil (Chandra et al., 2012).

Analisis Data

Analisis data dilakukan secara kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif berupa hasil identifikasi kandungan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak etanol yang disajikan secara deskriptif. Data kuantitatif berupa hasil penentuan aktivitas antiinflamasi berupa nilai IC₅₀ terhadap penghambatan denaturasi protein. Data kuantitatif dianalisis statistik menggunakan aplikasi IBM SPSS Statistics 25. Rancangan kelompok uji penghambatan denaturasi protein terbagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok 1 (kontrol positif), kelompok 2 (larutan uji ekstrak etanol daun *P. kalimantanensis*)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tumbuhan

Hasil determinasi menunjukkan bahwa tumbuhan yang diteliti adalah spesies *Paraboea kalimantanensis*. Hasil determinasi dengan nomor 070/170-LIT/KRB. Determinasi tumbuhan bertujuan untuk mengidentifikasi secara morfologi dan fisiologi kebenaran spesies tanaman uji sehingga menghindari kesalahan pengumpulan sampel tumbuhan yang akan diteliti (Bimmaharyanto et al., 2023).

Pengolahan Serbuk Simplicia Daun *P. Kalimantanensis*

Simplicia kering yang diperoleh sebesar 267 g dengan karakteristik berwarna coklat muda, tidak berbau, dan tidak berasa (Gambar 2). Pengolahan serbuk simplicia daun *P. kalimantanensis* melalui beberapa tahapan yaitu sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering dan penyimpanan. Daun segar *P. kalimantanensis* dipisahkan dari kotoran atau bahan asing lainnya seperti debu, tanah, dan pasir yang harus dibuang. Pencucian dengan air mengalir bertujuan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lainnya yang menempel. Tanah mengandung bermacam-macam

mikroba dalam jumlah tinggi, sehingga pembersihan daun dari tanah dapat mengurangi jumlah mikroba awal (Arifien et al., 2022). Perajangan dilakukan untuk memudahkan proses pengeringan. Semakin tipis sampel yang akan dikeringkan, semakin cepat penguapan air sehingga mempercepat waktu pengeringan. Pengeringan bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Pengeringan akan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik sehingga mencegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia (Depkes RI, 1985).



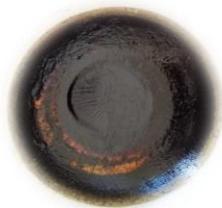
Gambar II. Simplisia daun *P. kalimantanensis*

Pembuatan Ekstrak Etanol

Ekstrak etanol daun *P. kalimantanensis* yang diperoleh berwarna hijau tua (Gambar 3) sebanyak 18,76 gram dengan persen rendemen yang diperoleh sebesar 15,66%. Hasil penelitian sebelumnya rendemen ekstrak etanol daun *P. kalimantanensis* sebesar 9,3% (Syaputri, 2023). Rendemen yang didapatkan lebih besar kemungkinan karena penelitian sebelumnya proses ekstraksi selama 6×24 jam, sedangkan pada penelitian ini ekstraksi dilakukan selama 7×24 jam. Rendemen merupakan rasio antara ekstrak yang diperoleh dengan jumlah simplisia awal. Rendemen diukur dalam persentase (%), semakin tinggi nilai rendemen yang didapat, semakin banyak ekstrak yang dihasilkan. Beberapa faktor dapat memengaruhi hasil rendemen dari suatu ekstrak, salah satunya adalah teknik ekstraksi yang digunakan. Faktor-faktor lain yang memiliki potensi untuk mempengaruhi jumlah ekstrak yang dihasilkan meliputi ukuran partikel sampel, kondisi serta periode penyimpanan sampel, durasi ekstraksi, rasio antara

jumlah sampel dan jumlah pelarut yang digunakan, serta jenis pelarut yang digunakan (Wijaya et al., 2018).

Proses ekstraksi serbuk daun *P. kalimantanensis* menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Keuntungan dari metode maserasi adalah peralatannya relatif sederhana dan dapat dilakukan pemanasan dengan suhu rendah atau bahkan tanpa pemanasan sehingga bisa digunakan pada senyawa-senyawa yang sensitif terhadap panas (Ulfa et al., 2023). Penggunaan pelarut etanol dipilih karena pelarut ini memiliki kemampuan untuk melarutkan beragam senyawa dengan berbagai tingkat polaritas, mulai dari senyawa nonpolar hingga senyawa polar. Kelebihan penggunaan etanol sebagai pelarut adalah sifatnya yang tidak toksik, netral, serta memiliki titik didih yang rendah (Kresnamurti et al., 2021).



Gambar III. Ekstrak etanol daun *P. Kalimantanensis*

Skrining Fitokimia Ekstrak Daun *P. Kalimantanensis*

Skrining fitokimia bertujuan untuk memberikan gambaran tentang jenis senyawa yang ada dalam tanaman yang sedang diteliti (Harborne, 1987). Pengujian senyawa fitokimia meliputi golongan alkaloid, terpenoid, steroid, tanin, fenolik, flavonoid, dan saponin dengan menggunakan pereaksi yang sesuai. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun *P. kalimantanensis* dapat dilihat pada Tabel I.

Tabel I. Hasil skrining ekstrak etanol daun *P. kalmantanensis*.

Golongan Senyawa	Reagent	Hasil
Alkaloid	Mayer dan Dragendorff	+
Terpenoid	Lieberman	-
Steroid	Burchard	+
Tanin	gelatin	+
Fenolik	FeCl ₃	+
Flavonoid	serbuk Mg dan HCl	+
Saponin	aquades	+

Keterangan :

+ = mengandung senyawa metabolit sekunder

- = tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan uji kualitatif pada identifikasi senyawa kimia pada Tabel I, diketahui bahwa senyawa alkaloid terdeteksi pada ekstrak etanol daun *P. kalmantanensis*. Hasil ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yaitu ekstrak etanol daun *P. kalmantanensis* tidak mengandung senyawa alkaloid (Syaputri, 2023). Identifikasi senyawa alkaloid dilakukan menggunakan reagen spesifik yaitu Mayer dan Dragendorff. Sampel yang mengandung alkaloid akan menghasilkan endapan merah jingga saat diuji dengan reagen Dragendorff dan endapan putih saat diuji dengan reagen Mayer. Endapan yang terbentuk merupakan kompleks kalium-alkaloid, karena senyawa alkaloid mengandung atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas yang dapat membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam. Nitrogen pada senyawa alkaloid akan berinteraksi dengan ion logam K⁺ dari kalium tetraiodomerurat (II), membentuk kompleks kalium-alkaloid yang menghasilkan endapan berwarna putih untuk reagen Mayer. Atom nitrogen pada senyawa alkaloid dengan uji Dragendorff akan berinteraksi dengan ion logam K⁺ dari kalium tetraiodobismutat (III), membentuk kompleks kalium-alkaloid yang menghasilkan endapan berwarna merah jingga (Nugrahani et al., 2016).

Uji Aktivitas Antiinflamasi

Ekstrak etanol daun *P. kalmantanensis* dilakukan pengujian aktivitas antiinflamasi menggunakan metode

uji penghambatan denaturasi protein, dimana sebagai kontrol positif menggunakan natrium diklofenak. Natrium diklofenak dipilih sebagai kontrol positif karena dapat memberikan efek antiinflamasi yang cepat. Selain itu, obat ini termasuk dalam golongan antiinflamasi nonsteroid yang bekerja secara nonselektif, serta memiliki kelarutan yang baik dalam air maupun pelarut organik (Novika et al., 2021). Hasil pengujian dilakukan perhitungan nilai IC₅₀ untuk mengetahui konsentrasi yang mampu menghambat denaturasi protein dengan persentase 50%. Nilai IC₅₀ digunakan untuk membandingkan aktivitas antiinflamasi sampel dengan pembanding natrium diklofenak. Natrium diklofenak dibuat seri konsentrasi 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100 ppm. Larutan seri konsentrasi tersebut kemudian dilakukan pengujian aktivitas antiinflamasi dengan metode penghambatan denaturasi protein. Hasil aktivitas antiinflamasi natrium diklofenak dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel II. Aktivitas antiinflamasi natrium diklofenak.

Kons (ppm)	% Inhibisi			Rata- rata	SD
	R-I	R-II	R-III		
6,25	8,914	8,785	8,430	8,709	0,204
12,5	33,591	33,979	33,981	33,850	0,183
25	44,832	45,090	45,136	45,019	0,133
50	61,369	61,111	60,700	61,060	0,275
100	81,136	81,007	81,582	81,241	0,246

Aktivitas antiinflamasi natrium diklofenak dengan konsentrasi 6,25 ppm memberikan hasil persentase penghambatan denaturasi kurang dari 20%. Hasil tersebut menunjukkan natrium diklofenak dengan konsentrasi 6,25 ppm kurang efektif untuk menghambat proses inflamasi. Natrium diklofenak dengan konsentrasi 12,5; 25; 50; dan 100 ppm memberikan hasil persentase penghambatan denaturasi lebih dari 20% sehingga memiliki aktivitas antiinflamasi. Senyawa yang menghambat denaturasi lebih besar dari 20% dianggap memiliki potensi sebagai antiinflamasi dan dapat bermanfaat untuk pengembangan obat (Williams et al.,

2008). Berdasarkan penelitian sebelumnya natrium diklofenak memiliki aktivitas antiinflamasi mulai dari konsentrasi 25 ppm dengan persentase penghambatan denaturasi protein sebesar 45,72% (Fadlilaturrahmah et al., 2022). Nilai IC_{50} natrium diklofenak yang didapatkan dari penelitian ini adalah 29,911 ppm. Berdasarkan penelitian sebelumnya nilai IC_{50} natrium diklofenak adalah $48,14 \pm 0,32$ ppm (Fadlilaturrahmah et al., 2022). Hasil perhitungan nilai IC_{50} natrium diklofenak disajikan pada tabel 3.

Tabel III. Hasil IC_{50} natrium diklofenak

Sampel	IC_{50} (ppm)	$\bar{x} IC_{50} \pm SD$ (ppm)	RSD (%)
Natrium Diklofenak	29,920	29,911 ± 0,006	0,02
	29,909		
	29,906		

Ekstrak dibuat seri konsentrasi 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100 ppm. Hasil aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun *P. kalimantanensis* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel IV. Aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun *P. Kalimantanensis*

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi			$\bar{x} \%$ Inhibisi	SD	RS (%)
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III			
6,25	24,547	24,677	25,513	24,579	0,070	0,287
12,5	30,490	30,361	30,090	30,313	0,166	0,549
25	58,914	59,043	58,754	58,903	0,118	0,200
50	72,868	72,868	73,022	72,919	0,072	0,099
100	73,643	73,514	73,670	73,609	0,068	0,092

Ekstrak etanol daun *P. kalimantanensis* dengan konsentrasi 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100 ppm memberikan hasil persentase penghambatan denaturasi lebih dari 20% sehingga memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi. Senyawa yang menghambat denaturasi lebih besar dari 20% dianggap memiliki potensi antiinflamasi dan dapat bermanfaat untuk pengembangan obat (Williams et al., 2008). Penelitian lain pada ekstrak etanol kulit batang *C. nurvala* Buch. Ham menunjukkan kemampuan aktivitas antiinflamasi

mulai dari konsentrasi 50 ppm dengan persentase penghambatan denaturasi protein sebesar 46,89% (Syabana, 2022). Ekstrak etanol daun *P. kalimantanensis* dengan konsentrasi lebih rendah mampu menghambat lebih dari 20% denaturasi protein daripada natrium diklofenak sehingga dianggap lebih baik dan berpotensi untuk digunakan dalam pengobatan. Hasil penentuan nilai IC_{50} ekstrak etanol daun *P. kalimantanensis* dengan analisis probit SPSS terdapat pada Tabel 5.

Tabel V. Hasil IC_{50} ekstrak etanol daun *P. Kalimantanensis*

Sampel	IC_{50} (ppm)	$\bar{x} IC_{50} \pm SD$ (ppm)	RSD (%)
Ekstrak Etanol Daun <i>P. kalimantanensis</i>	22,497	22,530 ± 0,051	0,226
	22,491		
	22,603		

Nilai IC_{50} ekstrak etanol yang didapatkan dari penelitian ini adalah 22,530 ppm. Penelitian lain pada ekstrak kulit batang *C. nurvala* Buch. Ham menunjukkan nilai IC_{50} sebesar $122,07 \pm 0,50$ ppm (Syabana, 2022). Ekstrak etanol daun *P. kalimantanensis* memiliki nilai IC_{50} yang lebih rendah dibandingkan dengan nilai IC_{50} natrium diklofenak. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *P. kalimantanensis* memiliki aktivitas antiinflamasi yang lebih baik dibandingkan dengan natrium diklofenak.

Hasil uji aktivitas antiinflamasi berdasarkan nilai IC_{50} natrium diklofenak dan ekstrak etanol daun *P. kalimantanensis* pada masing-masing replikasi dilakukan uji statistik dengan menggunakan software IBM SPSS® versi 25. Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa nilai IC_{50} natrium diklofenak dan ekstrak daun *P. kalimantanensis* ($p \geq 0,05$) dengan nilai berturut-turut sebesar 0,391 dan 0,091; artinya terdistribusi normal. Hasil uji homogenitas Levene Statistic diperoleh bahwa nilai IC_{50} natrium diklofenak, dan ekstrak daun *P. kalimantanensis* menunjukkan nilai 0,002 ($p < 0,05$) artinya data tidak homogen sehingga tidak bisa dilanjutkan dengan uji ANOVA. Analisis dilanjutkan ke tahapan analisis uji non parametrik yaitu uji Kruskal-

Wallis. Hasil uji Kruskal-Wallis IC₅₀ natrium diklofenak dan ekstrak daun *P. kalmantanensis* yaitu sebesar 0,016 (p < 0,05) artinya terdapat perbedaan bermakna pada data yang di uji. Hasil uji Mann-Whitney diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,05 (p ≤ 0,05) antara natrium diklofenak dengan ekstrak daun *P. kalmantanensis* artinya terdapat perbedaan yang signifikan.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun *P. kalmantanensis* mengandung senyawa golongan alkaloid, steroid, tanin, fenolik, flavonoid, dan saponin serta memiliki aktivitas antiinflamasi dengan nilai IC₅₀ sebesar 22,530 ppm, lebih baik daripada natrium diklofenak yaitu dengan nilai IC₅₀ sebesar 29,911 ppm. Daun tumbuhan *P. Kalmantanensis* memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan menjadi bahan obat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapkan terima kasih kepada Universitas Lambung Mangkurat atas Dukungannya, tim riset yang solid, Laboratorium Program Studi Farmasi FMIPA ULM atas semua fasilitas yang diberikan, Arbayah "UMKM Rumah Herbal Benalu Batu" Tanah Bumbu, serta semua fihak yang berkontribusi dalam penelitian ini.

REFERENSI

- Agustina, S., Ruslan & A. Wiraningtyas. 2016. Skrining Fitokimia Tanaman Obat di Kabupaten Bima. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal Of Applied Chemistry)*. **4**: 71-76.
- Arifien, Y., R. P. Putra, D. B. Wibaningwati, P. T. Anasi, A. Masnang, F. H. Rizki, A. R. Surandi, R. Rismaya, L. Marlina, S. Anggarawati, R. Prihatini, Sunardi & E. Indrawati. 2022. *Pengantar Ilmu Pertanian*. Global Eksekutif Teknologi, Padang.
- Bimmaharyanto, D. E., R. O. Umboro & F. Apriliany. 2023. Uji Invitro Aktivitas Mukolitik Ekstrak Etanol 70% Daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala* (Lam) De Wit). *Jurnal Kesehatan Qamarul Huda*. **11**: 322-329.
- Bindu, S., S. Mazumder & U. Bandyopadhyay. 2020. Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs (NSAIDs) and Organ Damage: A Current Perspective. *Biochemical Pharmacology*. **180**: 1-21.
- Chandra, S., P. Chatterjee, P. Dey & S. Bhattacharya. 2012. Evaluation of In Vitro Anti Inflammatory Activity of Coffee Against the Denaturation of Protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. **2**: S178–S180.
- Depkes RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Depkes RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia* Edisi I. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Ellulu, M. S., I. Patimah, H. Khaza'ai, A. Rahmat & Y. Abed. 2017. Obesity & Inflammation: The Linking Mechanism & The Complications. *Archives of Medical Science*. **13**: 851-863.
- Fadlilaturrahmah, F., J. Amilia, Y. Sukmawaty & N. Wathan. 2022. Identifikasi Fitokimia dan Uji Aktivitas Antiinflamasi In Vitro Fraksi n-Heksana Kapur Naga (*Calophyllum soulattri* Burm F) dengan Metode Uji Penghambatan Denaturasi Protein menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. *Jurnal Pharmascience*. **9**: 355-367.
- Farida, Y., D. Rahmat & A. W. Amanda. 2018. Uji Aktivitas Antiinflamasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. **16**: 225-230.
- Fridiana, D. 2012. Uji Antiinflamasi Ekstrak Umbi Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L) pada Kaki Tikus Galur Wistar Jantan yang Diinduksi Karagen. *Skripsi Program Studi Kedokteran Gigi*. Universitas Jember, Jember.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia* Edisi II. ITB Press, Bandung.
- Henneh, I. T., R. Akrofi, E. O. Ameyaw, D. Konja, G. Owusu, B. Abane, J. Acquah-Mills, F. J. Edzeameh & F. Tayman. 2018. Stem Bark Extract of *Sterculia setigera* Delile Exhibits Anti-Inflammatory Properties Through Membrane Stabilization, Inhibition of Protein Denaturation and Prostaglandin E2 Activity. *Journal of Pharmaceutical Research International*. **22**: 1-11.
- Ikrom, T. R. D. Asih, A. R. Wira, B. B. Perkasa, N. R. Tiara & Wasito. 2014. Studi In Vitro Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria alba*) sebagai Anti Aeromonas hydrophila. *Jurnal Sain Veteriner*. **32**: 105–116.

- Kanjikar, A. P., L. H. Aruna & R. L. Londonkar. 2017. A Novel Investigation of In Vitro Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity of *Ficus krishnae*. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. **4**: 313-317.
- Kresnamurti, A., F. Izazi & D. Kurniawati. 2021. Standardisasi Ekstrak Etanol 96% Bulu Babi (*Echinometra mathaei*) dari Perairan Bangkalan. *Journal of Herbal, Clinical and Pharmaceutical Science (HERCLIPS)*. **2**: 21-28.
- Mulia, N. 2022. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Benalu Batu (*Paraboea Sp*) sebagai Kandidat Antikanker. *Skripsi Program Studi Kedokteran*. Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin.
- Novika, D. S., A. Riska & D. F. Yani. 2021. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Penghambatan Denaturasi Protein. *Stannum: Jurnal Sains Dan Terapan Kimia*. **3**: 16-22.
- Nugrahani, R., Y. Andayani & A. Hakim. 2016. Skrining Fitokimia dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*. **2**: 96-103.
- Rahmawati, A. N. & A. Kurniawati. 2016. Pertumbuhan Beberapa Jenis Sirih (*Piper Spp.*) pada Berbagai Intensitas Naungan. *Buletin Agrohorti*. **4**: 288-297.
- Reynaldi & D. F. Yani. 2021. Potensi Anti-Inflamasi Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata* L) terhadap Denaturasi Protein secara In Vitro. *Spin: Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia*. **3**: 12-21.
- Samodra, G. 2019. Standarisasi Parameter Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Buah Asam Gelugur (*Garcinia atroviridis* Griff.). *Viva Medika*. **II**: 16–26.
- Singh, N., D. Baby, J. P. Rajguru, P. B. Patil, S. S. Thakkannavar & V. B. Pujari. 2019. Inflammation and Cancer. *Annals of African Medicine*. **18**: 121-126.
- Syabana, R. A. 2022. Skrining Fitokimia dan Uji Penghambatan Denaturasi Protein pada Aktivitas Antiinflamasi In Vitro Ekstrak Dan Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Tigarun (*Crataeva nurvala* Buch. Ham). *Skripsi Program Studi Farmasi*. Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.
- Syaputri, K. H. 2023. Uji Farmakognostik dan Aktivitas Antioksidan daun Benalu Batu (*Paraboea kalimantanensis*) Asal Kalimantan Selatan. *Skripsi Program Studi Farmasi*. Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.
- Ulfa, A. S. M., Emelda, M. A. Munir & N. Sulistyani. 2023. Pengaruh Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi terhadap Standardisasi Parameter Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. **6**: 1-12.
- Vernanda, R. Y., M. R. Puspitasari & H. N. Satya. 2019. Standarisasi Spesifik dan Non Spesifik Simplicia dan Ekstrak Etanol Bawang Putih Tunggal Fermentasi (*Allium sativum* Linn.). *Jurnal Farmasi Sains Dan Terapan*. **6**: 74–83.
- WHO. 2013. *WHO Traditional Medicine Strategy: 2014-2023*. World Health Organization, Switzerland.
- Wijaya, H., Novitasari & S. Jubaidah. 2018. Perbandingan Metode Ekstraksi terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. **4**: 79-83.
- Williams, L. A. D., A. O'Connar, L. Latore, O. Dennis, S. Ringer, J. A. Whittaker, J. Conrad, B. Vogler, H. Rosner & W. Kraus. 2008. 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 Use of Animals. *West Indian Medical Journal*. **57**: 327-331.
- Wirasti. 2019. Penetapan Kadar Fenolik Total, Flavonoid Total, dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Benalu Petai (*Scurrula atropurpurea* Dans.) Beserta Penapisan Fitokimia. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*. **4**: 1-5