



**UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL  
DAUN JERUJU (*Acanthus ilicifolius*) MENGGUNAKAN  
METODE PENGHAMBATAN DENATURASI PROTEIN**

**SKRIPSI**

**Oleh**

**Putri Nur Khafifah  
212210101092**

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN  
TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS FARMASI  
PROGRAM STUDI FARMASI  
JEMBER  
2025**



**UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL  
DAUN JERUJU (*Acanthus ilicifolius*) MENGGUNAKAN  
METODE PENGHAMBATAN DENATURASI PROTEIN**

*diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan memperoleh gelar Sarjana pada  
program studi Farmasi*

**SKRIPSI**

**Oleh**

**Putri Nur Khafifah  
212210101092**

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN  
TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS FARMASI  
PROGRAM STUDI FARMASI  
JEMBER  
2025**

## **PERSEMBAHAN**

Naskah skripsi ini penulis persembahkan untuk:

1. Pribadi penulis
2. Orang tua tercinta
3. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember

## **MOTTO**

“Tetap semangat, tetap kuat, jangan pernah menyerah bahkan berhenti, sebab di ujung sana ada perjuangan orang tua yang sangat berharga dan ada senyum beliau yang menanti wisudamu”

“Maka, sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan.”

(QS. Al Insyirah: 5-6)

“Bisa duduk di bangku kuliah itu anugerah dari Tuhan, jadi mahasiswa harus bertanggung jawab dengan anugerah yang telah diberikan Tuhan.”

-Najwa Shihab

## PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Putri Nur Khafifah

NIM : 212210101092

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul : *“Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Jeruju (Acanthus ilicifolius) Menggunakan Metode Penghambatan Denaturasi Protein”* adalah benar-benar hasil karya pribadi, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 3 Juni 2025

Yang menyatakan,



97AMX257248574

Putri Nur Khafifah  
NIM 212210101092

## HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi berjudul "*Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Jeruju (Acanthus ilicifolius) Menggunakan Metode Penghambatan Denaturasi Protein*" telah diuji dan disetujui oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari : Selasa

Tanggal : 3 Juni 2025

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

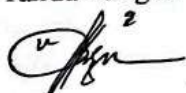
### Pembimbing

#### 1. Pembimbing Utama

Nama : Dr. apt. Siti Muslichah, S.Si., M.Sc.

NIP : 197305132005012001

Tanda Tangan



(.....)

#### 2. Pembimbing Anggota

Nama : apt. Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm.

NIP : 198712082014042002



(.....)

### Penguji

#### 1. Penguji Utama

Nama : apt. Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm.

NIP : 198407122008122002




(.....)

#### 2. Penguji Anggota

Nama : Dr. apt. Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si.

NIP : 197807282005012001



(.....)

Mengetahui,

Dekan



Prof. apt. Ari Satia Nugraha, S.F., GdipSc., M.Sc., Ph.D  
NIP 197807212003121001

## ABSTRACT

*Inflammation is a normal response of the body to various stimuli that can damage tissues. However, excessive inflammation can lead to various other diseases. The use of corticosteroid drugs and NSAIDs for a long time can also result in adverse side effects. Alternative treatment from natural materials has been carried out by the community for the treatment of inflammation such as the Jeruju plant (*Acanthus ilicifolius*). This study was conducted to analyze the effect of protein denaturation inhibition of ethanol extract of jeruju leaves compared to the positive control in the form of diclofenac sodium. Jeruju leaf samples were extracted using the ultrasonication method with a yield of 7.35% and based on the screening results, it was found that the positive extract contained alkaloid, flavonoid, phenol and terpenoid compounds. The total flavonoid content was 29.173 mg RE/gram extract or 2.917%. Protein denaturation testing of jeruju leaf ethanol extract showed that concentrations of 50, 75, 150, 200 and 250  $\mu\text{g/mL}$  had the ability to inhibit protein denaturation with an inhibition percentage value of  $>20\%$ . The  $\text{IC}_{50}$  value of jeruju leaf ethanol extract was obtained at 207.706  $\mu\text{g/mL}$ . These results are higher than the  $\text{IC}_{50}$  value of diclofenac sodium. The anti-inflammatory ability of jeruju leaf extract is thought to be due to flavonoid and terpenoid compounds contained in the extract.*

*Keywords: Jeruju (*Acanthus ilicifolius*), protein denaturation inhibition, inflammation*

## RINGKASAN

**Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Menggunakan Metode Penghambatan Denaturasi Protein:** Putri Nur Khafifah: 212210101092; 2025; 36 Halaman; Fakultas Farmasi, Universitas Jember.

Penyakit yang berkaitan dengan inflamasi di Indonesia tergolong cukup tinggi. Inflamasi umumnya merupakan suatu respon normal tubuh dalam menghadapi berbagai rangsangan yang dapat merusak. Namun, proses inflamasi yang berlebihan dapat menyebabkan berbagai permasalahan lain seperti penyakit *rheumatoid arthritis*, penyakit jantung, dan kanker. Penggunaan obat kortikosteroid dan NSAID dalam jangka panjang juga dapat menyebabkan efek samping yang merugikan. Proses inflamasi dapat dipicu oleh terjadinya denaturasi protein sehingga potensi kemampuan antiinflamasi suatu senyawa dapat dianalisis menggunakan metode penghambatan denaturasi protein.

Pengembangan alternatif pengobatan dari bahan alami perlu dilakukan. Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) telah dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai pengobatan penyakit yang berkaitan dengan inflamasi. Penelitian-penelitian telah menunjukkan potensi kemampuan antiinflamasi pada bagian daun jeruju. Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh penghambatan denaturasi protein oleh ekstrak etanol daun jeruju dibandingkan terhadap natrium diklofenak sebagai kontrol positif.

Sampel daun jeruju diambil dari Kawasan tepi Pantai di Kecamatan Negara, Kabupaten Jembrana, Bali. Ekstraksi dilakukan dengan metode ultrasonikasi, kemudian ekstrak etanol daun jeruju hasil ekstraksi dilakukan uji skrining fitokimia menggunakan uji reaksi warna serta penetapan total kadar flavonoid. Uji kemampuan antiinflamasi dilakukan melalui metode penghambatan denaturasi protein menggunakan *Bovine Serum Albumin* (BSA) sebagai indikatornya.

Berdasarkan hasil pengujian, rendemen ekstrak etanol daun jeruju didapatkan sebesar 7,35%. Skrining fitokimia berdasarkan uji warna didapatkan hasil bahwa ekstrak positif mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid,

fenol dan terpenoid. Kadar total flavonoid dinyatakan setara rutin didapatkan sebesar 29,173 mg RE/gram ekstrak (2,917%).

Pengujian denaturasi protein terhadap ekstrak etanol daun jeruju menunjukkan bahwa konsentrasi 50, 75, 150, 200 dan 250  $\mu\text{g/mL}$  memiliki kemampuan penghambatan denaturasi protein dengan nilai persentase inhibisi  $>20\%$ . Konsentrasi yang meningkat berbanding lurus dengan kenaikan persentase inhibisi dan kemampuan penghambatan denaturasi. Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara nilai  $\text{IC}_{50}$  natrium diklofenak dan ekstrak etanol daun jeruju. Nilai  $\text{IC}_{50}$  ekstrak etanol daun jeruju didapatkan sebesar 207,706  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil tersebut tergolong lebih rendah daripada nilai  $\text{IC}_{50}$  natrium diklofenak yaitu 15,996  $\mu\text{g/mL}$  dikarenakan natrium diklofenak merupakan senyawa tunggal yang secara farmakologis memang memiliki aktivitas antiinflamasi. Kemampuan penghambatan inflamasi dari ekstrak etanol daun jeruju diduga berasal dari peran senyawa flavonoid, terpenoid, alkaloid dan fenol yang terkandung didalam ekstrak.

## PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT., yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Menggunakan Metode Penghambatan Denaturasi Protein” dapat diselesaikan dengan baik. Sholawat serta salam penulis haturkan kepada Baginda Nabi Besar Muhammad SAW., yang telah menjadi teladan bagi umat manusia.

Penyusunan skripsi ini juga tidak lepas dari dukungan, bantuan, dan bimbingan dari berbagai pihak. Bersamaan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya dengan hati yang tulus kepada:

1. Prof. apt. Ari Satia Nugraha, S.F., GdipSc., M.Sc., Ph.D, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember.
2. Ibu Dr. apt. Budipratiwi Wisudyaningsih, S.Farm., M.Sc., selaku kepala program studi S1 Farmasi Universitas Jember.
3. Ibu apt. Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., selaku dosen wali yang telah membimbing penulis dalam menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi Universitas Jember.
4. Ibu Dr. apt. Siti Muslichah, S.Si., M.Sc. dan Ibu apt. Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm., selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan serta dorongan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Ibu apt. Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm. dan Ibu Dr. apt. Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si., selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran demi kebaikan penulisan skripsi ini.
6. Orang tua tercinta, ayah Bahar dan Ibu Hilmah serta keluarga besar. Terimakasih telah memberikan dukungan penuh dan doa atas segala usaha penulis selama menempuh pendidikan.
7. Teman serta sahabat penulis yang telah menemani dan memberikan motivasi kepada penulis selama masa perkuliahan.

8. Diri sendiri yang telah bertahan sejauh ini dan terus berjalan melewati segala tantangan yang semesta berikan.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dalam penyusunannya. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk menyempurnakan skripsi ini sehingga penelitian ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Jember, 3 Juni 2025



Putri Nur Khafifah

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>PERSEMBAHAN.....</b>	<b>ii</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>iii</b>
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>PRAKATA.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah.....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian .....</b>	<b>3</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN TEORI .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Jeruju (<i>Acanthus ilicifolius</i>).....</b>	<b>5</b>
2.1.1 Klasifikasi .....	5
2.1.2 Morfologi .....	6
2.1.3 Kandungan Kimia .....	6
2.1.4 Kegunaan dan Khasiat .....	7
<b>2.2 Ekstraksi.....</b>	<b>8</b>
<b>2.3 Skrining Fitokimia .....</b>	<b>10</b>
<b>2.4 Penetapan Kadar Flavonoid Total .....</b>	<b>10</b>
<b>2.5 Inflamasi.....</b>	<b>11</b>
2.5.1 Mekanisme Inflamasi.....	11
<b>2.6 Obat Antiinflamasi .....</b>	<b>12</b>
2.6.1 Obat Antiinflamasi Golongan Steroid.....	13

2.6.2 Obat Antiinflamasi Golongan Nonsteroid .....	13
<b>2.7 Metode Uji Penghambatan Denaturasi Protein.....</b>	<b>14</b>
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>15</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian .....</b>	<b>15</b>
<b>3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>15</b>
<b>3.3 Alat dan Bahan .....</b>	<b>15</b>
3.3.1 Alat.....	15
3.3.2 Bahan .....	15
<b>3.4 Variabel Penelitian .....</b>	<b>15</b>
<b>3.5 Definisi Operasional .....</b>	<b>16</b>
<b>3.6 Prosedur Penelitian .....</b>	<b>16</b>
3.6.1 Determinasi Tanaman .....	16
3.6.2 Pembuatan Simplisia.....	16
3.6.3 Ekstraksi.....	16
3.6.4 Skrining Fitokimia .....	17
3.6.5 Pengukuran Kadar Flavonoid Total .....	18
3.6.6 Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein.....	19
<b>3.7 Skema Rancangan Penelitian .....</b>	<b>21</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>22</b>
<b>4.1 Determinasi Tanaman .....</b>	<b>22</b>
<b>4.2 Ekstraksi.....</b>	<b>22</b>
<b>4.3 Skrining Fitokimia .....</b>	<b>23</b>
<b>4.4 Penetapan Kadar Flavonoid Total .....</b>	<b>24</b>
<b>4.5 Uji Aktivitas Antiinflamasi .....</b>	<b>25</b>
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>30</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>30</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>30</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>31</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>37</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Senyawa Kimia <i>Acanthus ilicifolius</i> .....	7
Tabel 4.1 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jeruju .....	23
Tabel 4.2 Hasil Pengukuran Kadar Flavonoid Total .....	24
Tabel 4.3 Hasil Penghambatan Denaturasi Protein .....	26

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> ) .....	6
Gambar 2.2 Mekanisme Inflamasi .....	12
Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian .....	21
Gambar 4.1 Daun Jeruju ( <i>Acanthus ilicifolius</i> ).....	22

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman.....</b>	<b>37</b>
<b>Lampiran 2. Perhitungan Persentase Rendemen Ekstrak.....</b>	<b>38</b>
<b>Lampiran 3. Hasil Skrining Fitokimia Uji Warna .....</b>	<b>39</b>
<b>Lampiran 4. Penentuan Kadar Flavonoid Total .....</b>	<b>42</b>
Lampiran 4.1 Perhitungan Penentuan Kadar Flavonoid Total .....	42
Lampiran 4.2 Dokumentasi Penentuan Kadar Flavonoid Total .....	45
<b>Lampiran 5. Uji Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein .....</b>	<b>46</b>
Lampiran 5.1 Penyiapan Bahan Uji .....	46
Lampiran 5.2 Hasil Uji Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein.....	48
Lampiran 5.3 Analisis Data.....	51
Lampiran 5.4 Dokumentasi Uji Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein .....	54

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Prevalensi penyakit yang berkaitan dengan inflamasi terus meningkat di Indonesia hingga menjadikannya salah satu tantangan kesehatan. Menurut data Riset Kesehatan Dasar 2018, frekuensi kejadian penyakit yang berkaitan dengan inflamasi di Indonesia cukup tinggi, mencapai sekitar 60%. Inflamasi (peradangan) merupakan respon normal tubuh terhadap rangsangan bahan kimia yang merusak, zat mikrobiologis, atau trauma fisik yang menyebabkan kerusakan jaringan (Tarigan dkk., 2023). Meskipun reaksi peradangan penting sebagai upaya pertahanan dan perlindungan tubuh terhadap kerusakan jaringan, proses inflamasi yang terjadi secara berlebihan dapat memicu berbagai penyakit seperti *rheumatoid arthritis*, penyakit jantung, dan kanker (Nirmala dkk., 2023).

Proses inflamasi ditandai dengan peningkatan permeabilitas pembuluh darah, perubahan stabilitas membran dan peningkatan denaturasi protein (Novika dkk., 2021). Denaturasi protein terjadi ketika protein kehilangan bentuk alami dan fungsi biologisnya, hal tersebut yang memicu terjadinya inflamasi (Gonfa dkk., 2023). Denaturasi protein dapat menyebabkan pembentukan antigen yang akan memicu reaksi hipersensitif tipe III sehingga inflamasi dapat terjadi (Akinyemi dkk., 2021). Protein seperti vimentin, kolagen dan fibrinogen dapat terdenaturasi akibat ROS atau panas karena inflamasi lokal sehingga dapat membentuk kompleks imun yang dapat mengaktifkan sistem imun menghasilkan mediator inflamasi. Inflamasi kronis dapat terjadi dan menyebabkan penyakit rematik (Khan & Khan, 2019).

Umumnya, penyakit inflamasi dapat diatasi dengan penggunaan obat konvensional antiinflamasi seperti golongan steroid dan nonsteroid. Namun, seringkali penggunaan obat golongan ini dalam jangka panjang dapat mengakibatkan efek samping yang merugikan dan serius seperti komplikasi pada saluran pencernaan, penyakit kardiovaskular, dan gagal ginjal (Salis & Sainsbury, 2024). Oleh karena itu, diperlukan pengembangan agen atau obat antiinflamasi yang efektif dan aman. Obat antiinflamasi golongan nonsteroid terbukti memiliki

peran dalam menghambat denaturasi protein, sehingga kemampuan suatu senyawa untuk menghambat denaturasi protein dapat digunakan sebagai indikator potensial aktivitas antiinflamasi (Dharmadeva dkk., 2018).

Masyarakat secara turun temurun telah memanfaatkan penggunaan obat tradisional dari berbagai tanaman obat untuk mengobati berbagai macam penyakit. Obat tradisional mudah diperoleh dan diolah dengan cara sederhana serta memiliki efek samping minimal jika digunakan secara tepat (Adiyasa & Meiyanti, 2021). Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat herbal yaitu jeruju (*Acanthus ilicifolius*). Tanaman ini merupakan tanaman mangrove famili Acanthaceae yang tersebar di berbagai negara termasuk Indonesia. Jeruju dikenal sebagai salah satu spesies tanaman yang kaya akan senyawa bioaktif. Beberapa senyawa metabolit yang terkandung dalam tanaman jeruju antara lain, senyawa alkaloid, asam lemak, fenol, flavonoid, lignan, glikosida, saponin, steroid, tannin dan komponen terpenoid (Tarigan dkk., 2023 dan Zohora dkk., 2023).

Dalam pengobatan Ayurveda dan pengobatan tradisional Thailand, tanaman jeruju digunakan sebagai obat antiinflamasi untuk keluhan rematik (Saranya dkk., 2015). Di Indonesia, tanaman jeruju telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Melayu dan Suku Banjar terutama pada bagian daunnya. Masyarakat Melayu di Desa Sungai Tekong menggunakannya sebagai obat rematik dengan cara direbus dan ditambah dengan kayu manis (Ernianingsih dkk., 2014). Masyarakat Banjar memanfaatkan daun jeruju untuk obat rematik (Ramadhan dkk., 2023).

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa daun jeruju (*A. ilicifolius*) menunjukkan potensi sebagai agen antiinflamasi. Senyawa flavonoid dan terpenoid pada daun jeruju diduga berpotensi memiliki aktivitas antiinflamasi (Ikhwan dkk., 2020). Berdasarkan hasil penelitian oleh Ikhwan dkk. (2020) dan Yanuarini dkk. (2018), fraksi etil asetat daun jeruju menunjukkan aktivitas penghambatan inflamasi yang dibuktikan dengan kemampuannya dalam mengurangi edema kaki mencit akibat pemberian karagenan. Ekstrak metanol daun jeruju juga terbukti memiliki aktivitas antiinflamasi yang cukup tinggi melalui penghambatannya pada enzim *COX-LOX* (Kumar dkk., 2008). Daun jeruju juga terbukti efektif mengobati tukak lambung pada tikus dengan konsentrasi 250 µg/mL (Rizeki dkk., 2020).

Berdasarkan permasalahan serta studi literatur mengenai kandungan kimia dan potensi aktivitas antiinflamasi daun jeruju, peneliti tertarik untuk melakukan sebuah penelitian lebih lanjut dalam pengembangan alternatif obat antiinflamasi dari tanaman jeruju. Penelitian ini difokuskan untuk menganalisis aktivitas antiinflamasi menggunakan metode *in vitro* berupa penghambatan denaturasi protein, melakukan skrining fitokimia serta menetapkan kadar total flavonoid dari ekstrak etanol daun jeruju. Penelitian bertujuan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa dalam ekstrak serta mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun jeruju (*A. ilicifolius*) terhadap denaturasi protein dibandingkan dengan natrium diklofenak.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas, rumusan masalah yang mendasari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Apa saja golongan senyawa metabolit yang terkandung dalam ekstrak etanol daun jeruju?
2. Berapa kadar flavonoid total pada ekstrak etanol daun jeruju?
3. Bagaimana pengaruh ekstrak etanol daun jeruju (*A. ilicifolius*) terhadap denaturasi protein secara *in vitro* dibandingkan dengan natrium diklofenak?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mengetahui kandungan golongan senyawa metabolit dalam ekstrak etanol daun jeruju.
2. Mengetahui kadar flavonoid total pada ekstrak etanol daun jeruju.
3. Mengetahui pengaruh ekstrak daun jeruju (*A. ilicifolius*) terhadap denaturasi protein secara *in vitro* dibandingkan dengan natrium diklofenak.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Manfaat bagi peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan pemahaman baru khususnya dalam bidang ilmu kesehatan terkait bahan alam dari daun jeruju sebagai alternatif pengobatan inflamasi. Selain itu, juga diharapkan dapat menjadi rujukan untuk penelitian lebih lanjut.

2. Manfaat bagi masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat terkait potensi daun jeruju sebagai alternatif pengobatan inflamasi.

3. Manfaat bagi ilmu pengetahuan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber penunjang dalam pengembangan penelitian dan pembelajaran mengenai pengobatan inflamasi yang bersumber dari bahan alam.

## BAB 2. TINJAUAN TEORI

### 2.1 Jeruju (*Acanthus ilicifolius*)

Jeruju atau dikenal dengan daruju (Jawa) merupakan tanaman mangrove genus *Acanthus* yang tumbuh luas di kawasan beriklim tropis dan subtropis (Bora dkk., 2017). Umumnya jeruju tumbuh secara berkelompok dalam bentuk herba rendah jenis semak (*shrub*) di lahan basah, tepi sungai, atau daerah mangrove (Aluri dkk., 2017).

#### 2.1.1 Klasifikasi

Berdasarkan *United States Department of Agriculture* (USDA, 2024), klasifikasi tanaman jeruju (*A. ilicifolius*) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Subkingdom : Tracheobionta  
Superdivisi : Spermatophyta  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Subkelas : Asteridae  
Ordo : Scrophulariales  
Famili : Acanthaceae  
Genus : *Acanthus*  
Spesies : *Acanthus ilicifolius* L.



Gambar 2.1 Jeruju (*A. ilicifolius*) (Abimanyu dkk., 2022)

### 2.1.2 Morfologi

Tanaman jeruju termasuk tanaman jenis perdu perennial, perdu tinggi tegak, tidak melilit dan tumbuh berkelompok dengan tinggi mencapai 0,5-3 meter. Jeruju memiliki ciri daun tunggal berwarna hijau tua dengan bentuk lonjong atau oval berukuran panjang 7,5-20 cm dan lebar 5-6 cm. Bagian tepi daun bergerigi disertai duri tajam. Bunganya memiliki warna biru muda hingga ungu atau putih dengan ukuran sekitar 4-5 cm. Buahnya berbentuk oval yang saat muda akan berwarna hijau dan berubah menjadi coklat apabila sudah matang. Tanaman ini juga memiliki 2-4 biji dengan bentuk biji seperti ginjal (Abimanyu dkk., 2022).

### 2.1.3 Kandungan Kimia

Tanaman jeruju mengandung beberapa senyawa metabolit antara lain, senyawa alkaloid, asam lemak, fenol, flavonoid, glikosida, lignan, saponin, steroid, terpenoid, dan tanin (Tarigan dkk., 2023 dan Zohora dkk., 2023). Kandungan kimia dalam ekstrak daun *A. ilicifolius* antara lain, karbohidrat, gula, protein, resin, alkaloid, flavonoid, fenol, glikosida, glikosida jantung, steroid, tanin, saponin, sterol, terpenoid, dan katekol (Velmani dkk., 2016).

Tabel 2.1 Senyawa Kimia *A. ilicifolius* (Saranya dkk., 2015)

Kelas kimia	Nama Senyawa
Alkaloid	Acanthicifoline, Trigonellin, 2-benzoxazoline, Benzoxazin-3-one, 5,5'-bis-benzoxazoline-2,2'-dione, Benzoxazinoid glucosides, 4-O-b-D-glucopyranosyl-benzoxazolin-2(3H)-one, (2R)-2-β-D-glucopyranosyloxy-2H-1,4-benzoxazine-3(4H)-one, (2R)-2-β-glucopyranosyloxy-4-hydroxy-1,4-benzoxazine-3-one (21), 2-hydroxy-2H-1, 4-benzoxazin 3(4H) one.
Flavonoid	Quercetin, quercetin 3-O-β-D-glucopyranoside, apigenin 7-O-β-D-glucuronide, methylapigenin 7-O-β-D-glucopyranuronate, acacetin 7-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1''6'')- O-β-D-glucopyranoside, vitexin.
Lignan glikosida	(+)-Lyoniresinol 3α-[2-(3,5-dimethoxy-4-hydroxy)-benzoyl]-O-β-glucopyranoside, dihydroxymethyl-bis (3,5-dimethoxy-4-hydroxyphenyl) tetrahydrofuran-9(or9')-O-β-D-glucopyranosid, (8R,7'S,8'R)-5,5'-dimethoxylariciresinol 4-O-β-D-glucopyranoside, Acanfolioside, Alangilignoside C, (+)-syringaresinol-O-β-D-glucopyranoside, (+)-lyoniresinol 3α-O-β-D-glucopyranoside, (+)-lyoniresinol 2α-O-α-D-galactopyranosyl-3α-O-β-D-glucopyranoside, (+)-lyoniresinol 3α-O-α-D-galactopyranosyl-(1-6)-β-D-glucopyranoside, (-)-lyoniresinol 3α-O-β-D-glucopyranoside
Triterpenoid	a-L-Arabinofuranosyl-(1/4)-β-D-glucuronopyranosyl-(1_3)-3 β-hydroxylup-20(29)-ene, pentacyclic triterpenes, β-amyrin, α-amyrin, lupeol, oleanolic acid dan ursolic acid
Steroid	Cholesterol, campesterol, stigmasterol, β-sitosterol, stigmast-7-en-3 β-ol, stigmasteryl β-D-glucopyranoside, 28-isofucosterol, octacosyl alcohol, β-sitosterol-3-O-β-D glucopyranoside, stigmasterol-3-O-β-D-glucopyranoside

#### 2.1.4 Kegunaan dan Khasiat

Tanaman jeruju banyak dimanfaatkan sebagai tanaman hias, bioindikator pencemaran dan tanaman obat. Berbagai bagian dari tanaman jeruju mulai dari akar,

daun, dan biji telah dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat dari berbagai penyakit. Biji jeruju dapat digunakan dalam pengobatan penyakit cacingan dan obat batuk, sedangkan akar jeruju dimanfaatkan untuk pengobatan penyakit hepatitis, kanker hati dan luka akibat panah beracun (Hariana, 2013).

Secara tradisional, tanaman jeruju digunakan dalam sistem pengobatan India, Cina, dan Thailand. Jeruju diklaim memiliki aktivitas sebagai afrodisiak, pembersih darah, diuretik, ekspektoran, obat asma, diabetes dispepsia, hepatitis, kusta, kelumpuhan, kurap, rematik, gigitan ular, neuralgia, sakit perut, keputihan, penyakit kulit dan leukemia (Velmani dkk., 2016). Di Indonesia, tanaman jeruju digunakan sebagai pengobatan kanker, batuk, darah tinggi, gatal, pegal-pegal dan pembersih darah kotor setelah melahirkan. Masyarakat Melayu dan Banjar memanfaatkan bagian daun dari tanaman jeruju untuk obat penyakit rematik, sakit gigi/radang gusi, dan penurun darah tinggi. Senyawa kimia yang terdapat dalam *A. ilicifolius* terbukti bermanfaat sebagai analgesik, antiinflamasi, antioksidan, antimikroba, antivirus, antijamur, neuralgia, antifertilitas, hepatoprotektif, antitumor, antikanker, antileukemia serta insektisida alami (Irawanto dkk., 2015).

## 2.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan metode pemisahan atau penarikan satu atau beberapa komponen aktif senyawa metabolit pada tumbuhan atau hewan dengan memanfaatkan pelarut yang tepat dan mengikuti prosedur yang telah ditentukan. Tiga langkah dasar dalam proses pemisahan ekstraksi yaitu penambahan pelarut dalam jumlah besar pada sampel (proses difusi), zat terlarut dipisahkan dari sampel kemudian terlarut dalam pelarut membentuk fase ekstraksi, dan pemisahan fase ekstrak dari sampel (Wahyuningsih dkk., 2024). Metode ekstraksi dipilih berdasarkan sifat dari kandungan senyawa pada sampel yang digunakan. Beberapa jenis metode ekstraksi yang umumnya digunakan adalah sebagai berikut:

### a. Ekstraksi Dingin

#### 1. Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi yang sederhana, dimana sampel akan direndam dalam pelarut yang sesuai pada suhu kamar selama beberapa

hari. Metode ini dapat diterapkan pada sampel dengan kandungan senyawa yang tidak stabil dengan pemanasan. Namun, metode ini banyak membutuhkan waktu dalam prosesnya, memungkinkan beberapa senyawa hilang, dan beberapa senyawa kemungkinan sulit untuk diekstrak pada suhu kamar (Wahyuningsih dkk., 2024).

## 2. Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi dimana serbuk simplisia yang telah dibasahi kemudian dialiri kembali dengan cairan penyari. Metode ini memiliki kelebihan yaitu sampel akan terus menerus dialiri oleh pelarut baru. Namun, kelemahannya yaitu cairan penyari akan sulit menjangkau seluruh area apabila sampel dalam perkolator tidak homogen. Selain itu juga dibutuhkan banyak pelarut dan waktu dalam prosesnya (Wahyuningsih dkk., 2024).

## b. Ekstraksi Panas

### 1. Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi melalui proses pemanasan dan kondensasi untuk mengekstrak suatu senyawa. Metode ini tidak sesuai apabila diterapkan pada senyawa yang bersifat termolabil karena dapat merusak senyawa tersebut (Wahyuningsih dkk., 2024).

### 2. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan metode ekstraksi melalui proses pemanasan dan kondensasi untuk mengekstrak suatu senyawa dari sampel yang diletakkan di dalam sarung selulosa. Kelebihan metode ini yaitu tidak memerlukan banyak pelarut dan waktu serta proses ekstraksi berjalan secara kontinyu. Namun, senyawa termolabil dapat terdegradasi jika diekstraksi menggunakan metode ini (Wahyuningsih dkk., 2024).

## c. Ultrasonik

Ultrasonik merupakan metode ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasound (getaran frekuensi tinggi, 20 kHz). Prinsipnya dengan menggunakan gelombang ultrasonik akan menimbulkan efek kavitasi, yaitu gelembung spontan di dalam cairan yang akan mengganggu dinding sel

tanaman agar pelarut dapat masuk ke dalam bahan dan mengekstrak senyawa yang terkandung di dalamnya. Metode ini termasuk metode yang efisien karena prosesnya yang singkat, penggunaan pelarut yang optimal dan hasil ekstrak yang optimal (Mukhriani, 2014).

### **2.3 Skrining Fitokimia**

Pengujian fitokimia merupakan teknik awal untuk menganalisis kandungan senyawa metabolit pada bahan alam seperti tanaman. Metode ini dilakukan secara kualitatif menggunakan reaksi warna dengan beberapa pereaksi kimia. Senyawa metabolit sekunder pada tanaman yang dapat dideteksi seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid/terpenoid. Metabolit sekunder merupakan komponen kimia yang umumnya memiliki aktivitas biologis yang berperan sebagai mekanisme pertahanan dan dapat dimanfaatkan sebagai obat untuk beberapa penyakit (Muthmainnah, 2017). Bagian tumbuhan yang dianalisis dari tanaman dapat berupa bagian daun, batang, bunga, buah, maupun akar yang berpotensi dijadikan senyawa obat. Kandungan senyawa tersebut dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan seperti posisi geografis, suhu, iklim, dan kondisi tanah tempat tanaman tumbuh (Lestari dkk., 2021).

### **2.4 Penetapan Kadar Flavonoid Total**

Flavonoid termasuk dalam kelompok senyawa fenolik alami yang banyak terkandung dalam hampir seluruh bagian pada tumbuhan termasuk daun, buah, batang dan akar. Penentuan kadar flavonoid total secara kuantitatif dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis untuk mengukur konsentrasi senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak. Identifikasi dilakukan dengan menggunakan reagen  $\text{FeCl}_3$  yang akan merubah larutan menjadi warna hijau Metode spektrofotometri UV-Vis dipilih karena struktur aromatik terkonjugasi pada flavonoid mampu menangkap cahaya UV-Vis. Penambahan  $\text{FeCl}_3$  pada larutan sampel akan membentuk kompleks berwarna kuning yang menyebabkan pergeseran panjang gelombang ke arah sinar tampak (Harborne, 1987).

## 2.5 Inflamasi

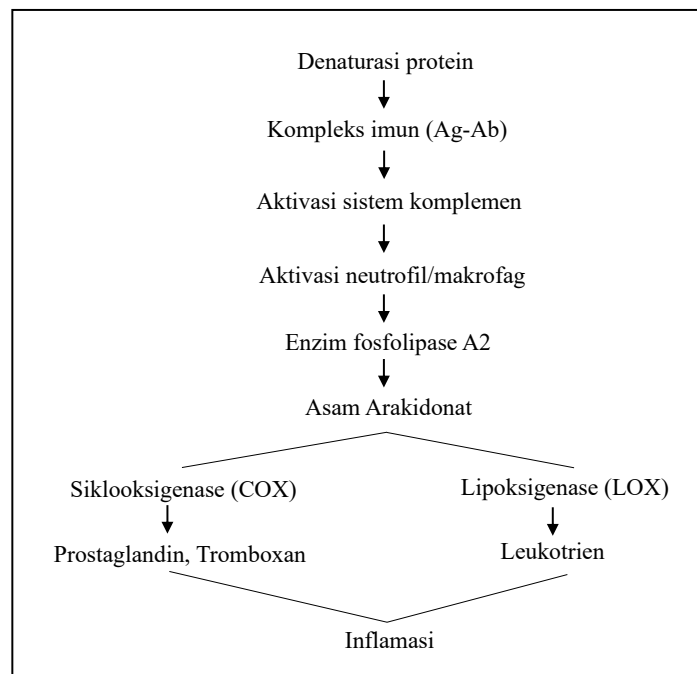
Inflamasi adalah reaksi dari sistem imun tubuh terhadap stimulus berbahaya seperti, patogen, sel yang mengalami kerusakan, senyawa toksik dan radiasi. Respon ini penting sebagai mekanisme pertahanan yang melindungi tubuh dari kerusakan. Namun, jika tidak teratur, inflamasi dapat berkontribusi dalam berbagai penyakit kronis. Respon inflamasi ditandai dengan tanda-tanda klinis seperti rubor (kemerahan), dolor (nyeri), calor (panas), tumor (pembengkakan), dan *function laesa* (penurunan fungsi). Secara umum, inflamasi dibagi menjadi dua jenis yaitu inflamasi akut yang terjadi dalam waktu singkat serta inflamasi kronis yang berlangsung lebih lama dan dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang lebih serius (Chen dkk., 2018).

### 2.5.1 Mekanisme Inflamasi

Mekanisme terjadinya inflamasi dimulai dengan pengenalan stimulus atau rangsangan berbahaya oleh sel-sel imun seperti makrofag, sel dendritik, *Toll-like receptors* (TLRs) dan *NOD-like receptors* (NLRs). Setelah pengenalan rangsangan, maka jalur persinyalan *NF- $\kappa$ B* akan aktif dan terjadi pelepasan mediator-mediator inflamasi seperti *IL-1*, *IL-6* dan *TNF- $\alpha$* . Mediator inflamasi berperan penting dalam mengatur dan memperkuat respon inflamasi serta merekrut sel-sel imun ke lokasi inflamasi. Aktivasi sel imun diawali dengan aktivitas neutrofil dalam menetralkan patogen melalui fagositosis dan pelepasan mediator pro-inflamasi. Kemudian, makrofag akan mengeliminasi sel-sel mati dan mengeluarkan mediator antiinflamasi untuk resolusi inflamasi. Proses ini penting untuk menghindari terjadinya proses inflamasi yang berlebihan, karena inflamasi berlebih dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan berkontribusi pada perkembangan penyakit kronis (Chen dkk., 2018).

Proses inflamasi ditandai dengan peningkatan permeabilitas pembuluh darah, perubahan stabilitas membran dan peningkatan denaturasi protein (Novika dkk., 2021). Peningkatan denaturasi protein dapat berperan sebagai penyebab maupun akibat dari proses inflamasi. Denaturasi protein terjadi ketika protein kehilangan bentuk alami dan fungsi biologisnya (Gonfa dkk., 2023). Perubahan struktur protein

tersebut akan membentuk agregat yang dikenali oleh sistem imun sebagai “bahan asing” sehingga mengakibatkan aktivasi sel-sel imun untuk melepas mediator inflamasi seperti sitokin dan kemokin (Tukiran dkk., 2023). Denaturasi protein dapat menyebabkan pembentukan antigen yang akan memicu reaksi hipersensitif tipe III sehingga inflamasi dapat terjadi (Akinyemi dkk., 2021). Selain itu, perubahan suhu atau perubahan pH selama proses inflamasi dapat mempercepat denaturasi protein lebih lanjut sehingga dapat mengakibatkan peradangan kronis dan cedera jaringan (Jozefowski & Marcinkiewicz, 2010).



Gambar 2.2 Mekanisme Inflamasi

## 2.6 Obat Antiinflamasi

Pengobatan inflamasi bertujuan untuk meringankan gejala nyeri dan memperlambat atau membatasi proses kerusakan jaringan (Mamarimbing dkk., 2022). Berdasarkan cara kerjanya, obat antiinflamasi diklasifikasikan menjadi dua golongan yaitu golongan steroid dan nonsteroid.

### 2.6.1 Obat Antiinflamasi Golongan Steroid

Obat antiinflamasi golongan steroid merupakan obat antiinflamasi yang mekanisme kerjanya dengan mencegah pelepasan prostaglandin dan sel-sel sumbernya (Mamarimbing dkk., 2022). Kortikosteroid menghasilkan efeknya melalui berbagai jalur. Secara umum, obat ini menghasilkan efek antiinflamasi dan immunosupresif yang dimediasi melalui reseptor glukokortikoid. Reseptor glukokortikoid akan menghambat proses transkripsi gen dan translasi serta penghambatan *fosfolipase A2* sehingga mengakibatkan penurunan sitokin proinflamasi, molekul adhesi sel, kemokin, dan enzim lain yang terlibat dalam respon inflamasi. Kortikosteroid juga akan menghambat produksi sel B dan sel T jika digunakan dalam konsentrasi tinggi. Contoh obat golongan kortikosteroid antara lain prednison, prednisolon, betametason, deksametason, dan lain sebagainya (Mamfaluthi, 2018).

### 2.6.2 Obat Antiinflamasi Golongan Nonsteroid

Obat antiinflamasi golongan nonsteroid (OANS) merupakan obat antiinflamasi yang mekanisme kerjanya dengan menekan produksi prostaglandin sebagai mediator inflamasi melalui inhibisi enzim *siklooksigenase*. Isoenzim *siklooksigenase* terbagi menjadi dua yaitu *siklooksigenase 1 (COX-1)* dan *siklooksigenase 2 (COX-2)*. Enzim *COX-1* diproduksi secara terus menerus di dalam tubuh dan memiliki peran dalam fungsi-fungsi penting seperti menjaga lapisan mukosa gastrointestinal, fungsi ginjal, serta agregasi trombosit. Sedangkan, enzim *COX-2* tidak dihasilkan secara terus menerus di dalam tubuh, tetapi akan terinduksi selama respons peradangan. Berdasarkan penghambatannya terhadap enzim *siklooksigenase*, OANS terbagi menjadi tiga jenis yaitu selektif *COX-2* (celecoxib, refecozib, valdecoxib), partial selektif (meloxicam) dan non selektif (diklofenak, piroksikam, indometasin, dan lain sebagainya). Penggunaan OANS nonselektif akan menghambat kedua enzim *COX-1* dan *COX-2*, sehingga dapat meningkatkan risiko efek samping pada lambung (Soleha dkk., 2018).

## 2.7 Metode Uji Penghambatan Denaturasi Protein

Metode uji penghambatan denaturasi protein digunakan untuk menilai aktivitas antiinflamasi suatu senyawa melalui kemampuannya dalam mencegah transformasi protein atau perubahan struktur protein. Metode ini sensitif, cepat dan tervalidasi untuk uji awal dalam mengetahui aktivitas antiinflamasi suatu ekstrak tanaman. Potensi aktivitas antiinflamasi suatu senyawa semakin besar apabila tingkat penghambatan denaturasi proteinnya tinggi (Akinyemi dkk., 2021).

Analisis dilakukan dengan mengukur tingkat kekeruhan larutan akibat protein yang terdenaturasi. Semakin keruh larutan menunjukkan kuantitas protein yang terdenaturasi lebih besar (Williams dkk., 2002). Salah satu pemicu terjadinya denaturasi protein adalah induksi panas yang dapat berasal dari paparan lingkungan luar. Denaturasi protein dapat terjadi akibat perubahan dalam ikatan hidrogen, ikatan disulfida serta gaya tarik elektrostatis dan hidrofobik (Chanda & Juvekar, 2018). Pengujian penghambatan denaturasi merupakan metode *in vitro* yang umumnya menggunakan indikator protein *Bovine Serum Albumin* (BSA) karena memiliki struktur yang mirip dengan *Human Serum Albumin* (HSA) (Yıldız dkk., 2020). Protein BSA juga memiliki kepekaan dan sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan indikator albumin lain (Farida dkk., 2018).

Obat antiinflamasi golongan nonsteroid dan beberapa ekstrak tanaman dengan aktivitas antiinflamasi memiliki kemampuan untuk mencegah terjadinya denaturasi BSA akibat paparan panas pada pH patologis (pH 6,2-6,5) (Dharmadeva dkk., 2018). Senyawa yang menunjukkan aktivitas antiinflamasi dapat mencegah terjadinya proses denaturasi protein dari paparan induksi panas sehingga menjaga stabilitas dan fungsi protein tubuh. Aktivitas antiinflamasi dapat dinyatakan sebagai persen penghambatan atau  $IC_{50}$  (Nirmala dkk, 2023).

## **BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN**

### **3.1 Jenis Penelitian**

Penelitian untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun jeruju ini dilakukan dengan eksperimen laboratorium melalui pengujian *in vitro* yang mengamati kemampuan ekstrak daun jeruju dalam menghambat denaturasi protein.

### **3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Mikrobiologi-Bioteknologi, Fakultas Farmasi Universitas Jember, dimulai sejak bulan September 2024 sampai April 2025.

### **3.3 Alat dan Bahan**

#### **3.3.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan terdiri dari ultrasonikator (Elma), corong *buchner*, *rotary evaporator* (B-One), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), *waterbath*, oven (Memmert), pH meter (Milwaukee), *hot plate* (Clifton), blender (Philips), timbangan analitik (Ohaus), ayakan, *vortex* (Thermoscientific), mikropipet, cawan porselen, alat gelas, dan spatula.

#### **3.3.2 Bahan**

Bahan yang digunakan meliputi daun jeruju, etanol 96%, *Tris base*, *Bovine Serum Albumin* (BSA), NaCl, natrium diklofenak, metanol P, etanol P, aquades, rutin, alumunium klorida P, natrium asetat, asam asetat glasial dan pereaksi warna skrining fitokimia.

### **3.4 Variabel Penelitian**

Variabel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Variabel bebas : konsentrasi ekstrak etanol daun jeruju (500  $\mu\text{g/mL}$ , 750  $\mu\text{g/mL}$ , 1500  $\mu\text{g/mL}$ , 2000  $\mu\text{g/mL}$ , 2500  $\mu\text{g/mL}$ )
2. Variabel terikat : persen penghambatan denaturasi protein,  $\text{IC}_{50}$

3. Variabel terkontrol : metode ekstraksi, pelarut ekstraksi, prosedur pengujian

### **3.5 Definisi Operasional**

Definisi operasional yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Daun jeruju yang digunakan dalam penelitian adalah daun jeruju tua dari kawasan tepi pantai di Kecamatan Negara, Kabupaten Jembrana, Bali pada bulan Agustus 2024.
2. Aktivitas antiinflamasi ditunjukkan dengan kemampuan sampel uji dalam menghambat denaturasi protein secara *in vitro*.
3. Senyawa uji dikatakan memiliki potensi penghambatan denaturasi protein jika persen penghambatannya > 20% (Williams dkk, 2002).
4. IC<sub>50</sub> adalah konsentrasi yang mampu memberikan persen penghambatan aktivitas antiinflamasi sebesar 50%.

### **3.6 Prosedur Penelitian**

#### **3.6.1 Determinasi Tanaman**

Identifikasi tanaman sampel diverifikasi melalui determinasi yang dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Malang.

#### **3.6.2 Pembuatan Simplisia**

Daun jeruju diperoleh dari kawasan pantai di Kecamatan Negara, Kabupaten Jembrana, Bali. Daun jeruju segar disortasi terlebih dahulu lalu dicuci pada air mengalir, dirajang dan dikeringanginkan selama sehari, kemudian dilakukan pengeringan kembali dengan oven. Setelah kering, daun jeruju disortasi kembali selanjutnya dihaluskan dengan blender dan diayak untuk memperoleh bentuk serbuk daun jeruju.

#### **3.6.3 Ekstraksi**

Sebanyak 100 gram serbuk daun jeruju direndam dengan pelarut etanol 96% (perbandingan 1:10). Ekstraksi menggunakan metode ultrasonik selama 20 menit pada suhu kamar. Ekstrak cair hasil ekstraksi disaring kemudian dilakukan pemekatan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C dan penangas air

hingga menjadi ekstrak kental. Selanjutnya, dilakukan skrining fitokimia pada ekstrak kental.

### 3.6.4 Skrining Fitokimia

Analisis kandungan fitokimia ekstrak daun jeruju dilakukan melalui serangkaian uji warna untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, fenol dan terpenoid.

#### a. Alkaloid (Vimalkumar dkk., 2014)

##### 1. Uji Dragendorff

Sejumlah ekstrak ditambahkan dengan pereaksi Dragendorff dan terbentuknya endapan jingga atau *orange* menandakan adanya senyawa alkaloid.

##### 2. Uji Mayer

Sejumlah ekstrak ditambahkan dengan pereaksi mayer dan terbentuknya endapan putih atau pucat menandakan adanya senyawa alkaloid.

#### b. Flavonoid

##### 1. Uji H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Ekstrak dalam jumlah 1 mL dicampurkan dengan 10 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan terbentuknya warna merah menandakan adanya senyawa flavonoid (Ernianingsih dkk., 2014).

##### 2. Uji Shinoda

Ekstrak dalam jumlah 1 mL dicampurkan dengan 4 potong magnesium dan 10 tetes HCl pekat, Keberadaan senyawa flavonoid ditandai dengan perubahan warna menjadi merah tua, merah muda atau jingga (Vimalkumar dkk., 2014).

##### 3. Reagen Alkali

Sejumlah ekstrak ditambahkan beberapa tetes NaOH, ketika terjadi perubahan warna larutan menjadi kuning pekat menunjukkan adanya senyawa flavonoid dan akan memudar ketika ditambahkan beberapa tetes asam encer (Vimalkumar dkk., 2014).

c. Saponin (Handayani dkk., 2018)

Ekstrak dalam jumlah 2 mL dicampurkan dengan 5 mL air panas lalu dikocok dengan kuat. Keberadaan senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya buih atau busa yang stabil selama 15 menit.

d. Fenol (Vimalkumar dkk., 2014)

Ekstrak dalam jumlah 1 mL dicampurkan dengan 3-4 tetes  $\text{FeCl}_3$  5%. Keberadaan senyawa fenolik pada ekstrak ditandai dengan perubahan warna menjadi biru atau hijau.

e. Terpenoid (Wahid & Safwan, 2020)

Ekstrak dalam jumlah 2 mL dicampurkan dengan 10 tetes  $\text{CH}_3\text{COOH}$  dan 2 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat secara hati-hati. Jika larutan berubah menjadi warna biru atau hijau maka menunjukkan adanya senyawa steroid, sedangkan perubahan warna larutan menjadi coklat kemerahan atau ungu menunjukkan adanya senyawa triterpenoid.

### 3.6.5 Pengukuran Kadar Flavonoid Total

Larutan uji dibuat dengan menimbang  $\pm 0,2$  gram ekstrak dan dilarutkan dengan 25 mL etanol P dalam labu Erlenmeyer. Selanjutnya, diekstraksi menggunakan pengaduk magnetik selama 1 jam. Setelah itu, hasil ekstraksi disaring dan ditambahkan etanol P sampai tanda dalam labu ukur 25 mL. Sedangkan larutan pembanding ditimbang sebanyak  $\pm 10$  mg rutin dan dilarutkan dengan etanol P sampai tanda dalam labu ukur 25 mL. Kemudian dilakukan pengenceran menjadi kadar 80, 100, 150, 200, 250  $\mu\text{g/mL}$ .

Pengukuran kadar flavonoid total dilakukan dengan spektrofotometer. Sebanyak 0,5 mL larutan uji dan masing-masing seri konsentrasi larutan pembanding dipipet ke dalam tabung reaksi secara terpisah, Setiap tabung ditambahkan 1,5 mL etanol P, 0,1 mL aluminium klorida P 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M dan 2,8 mL air. Larutan dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya diukur serapan larutan pada panjang gelombang  $\pm 425$  nm disertai dengan pengukuran larutan blanko. Kadar flavonoid total yang dinyatakan

sebagai rutin dalam ekstrak dihitung berdasarkan kurva kalibrasi dan rumus pada persamaan (1) berikut: (Farmakope Herbal Indonesia, 2017).

$$TFC = \frac{V (mL) \times X (mg/mL) \times FP}{m (g \text{ Ekstrak})} \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan:

TFC : Jumlah flavonoid total

V : Volume total ekstrak

X : Kadar sampel berdasarkan kurva kalibrasi

FP : Faktor pengenceran

m : Bobot sampel

### **3.6.6 Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein**

Uji aktivitas antiinflamasi dalam penelitian ini dilakukan dengan metode penghambatan denaturasi protein yang merujuk pada penelitian Rahmawati dkk. (2020) dan Novika dkk. (2021).

#### 1. Pembuatan Larutan *Tris Buffer Saline* (TBS)

4,35 gram NaCl dilarutkan dalam aquades dan ditambahkan 0,605 gram Tris Base. pH larutan diatur hingga diperoleh dengan pH antara 6,2-6,5 dengan menambahkan asam asetat glasial, kemudian ditambahkan aquades hingga mencapai volume 500 mL.

#### 2. Pembuatan Larutan *Bovine Serum Albumin* (BSA) 0,2%

0,2 gram *Bovine Serum Albumin* (BSA) dilarutkan dengan larutan TBS (*Tris Buffer Saline*) dalam labu ukur 100 mL, kemudian dilakukan penambahan larutan TBS sampai mencapai volume 100 mL.

#### 3. Pembuatan Larutan Kontrol Positif (Natrium Diklofenak)

100 mg natrium diklofenak dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 mL hingga menghasilkan larutan induk yang konsentrasinya sebesar 1000 µg/mL. Kemudian diencerkan untuk membuat serangkaian konsentrasi

larutan kontrol positif sebesar 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL dan 400 µg/mL.

4. Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

0,5 mL metanol dimasukkan dalam tabung reaksi.

5. Pembuatan Larutan Uji (Ekstrak Daun Jeruju)

125 mg ekstrak daun jeruju dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 50 mL hingga menghasilkan larutan induk 1 yang konsentrasinya sebesar 2500 µg/mL. 125 mg ekstrak daun jeruju dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 25 mL hingga menghasilkan larutan induk 2 yang konsentrasinya sebesar 5000 µg/mL. Kemudian diencerkan untuk membuat serangkaian konsentrasi larutan uji sebesar 500 µg/mL, 750 µg/mL dan 1500 µg/mL, 2000 µg/mL dan 2500 µg/mL.

6. Uji Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Penghambatan Denaturasi

Masing-masing konsentrasi larutan dipipet sebanyak 500 µL dan dilakukan penambahan larutan BSA 0,2% sampai mencapai volume 5 mL. Campuran larutan kemudian diinkubasi pada suhu ruang (25°C) selama 30 menit, dilanjutkan dengan pemanasan pada suhu ±72°C selama 15 menit. Setelah itu, larutan didinginkan kembali pada suhu ruang (25°C) dengan durasi 25 menit. Larutan kemudian dihomogenkan dengan *vortex* selama 1 menit sebelum diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 660 nm.

Penghambatan denaturasi protein dapat dihitung menggunakan rumus pada persamaan (2) sebagai berikut:

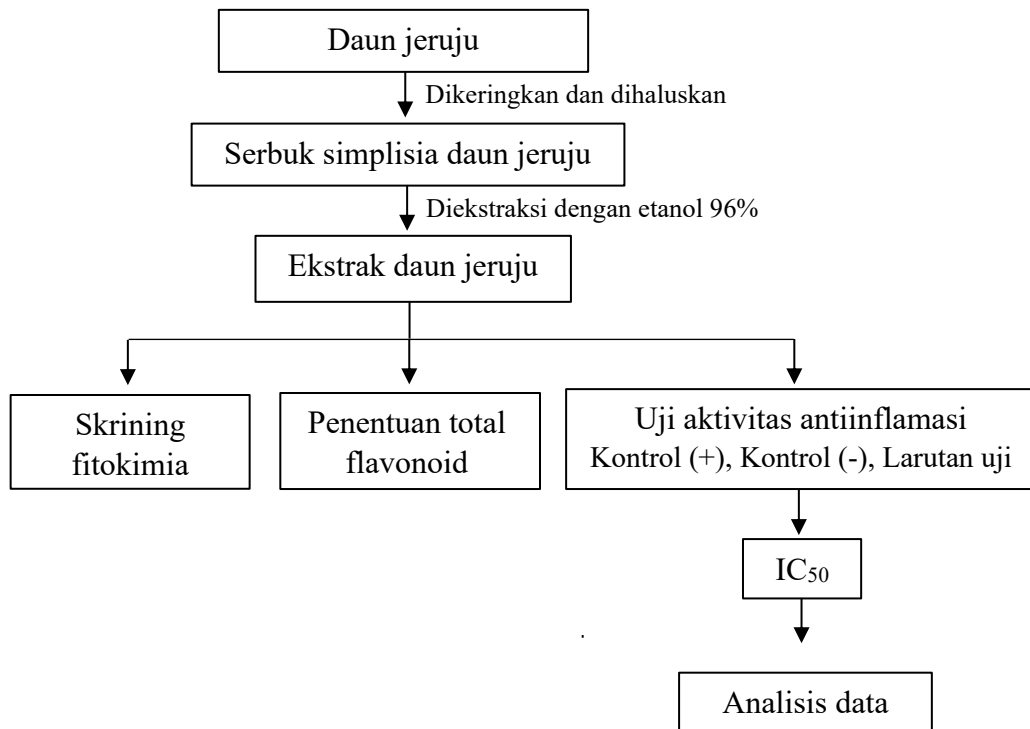
$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol negatif} - \text{absorbansi larutan uji}}{\text{absorbansi kontrol negatif}} \times 100 \dots \dots \dots (2)$$

7. Analisis Data

Analisis statistik dilakukan pada data IC<sub>50</sub> ekstrak daun jeruju dan natrium diklofenak. Normalitas data diuji menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, sedangkan homogenitas data dievaluasi dengan uji *Levene*. Apabila data memenuhi syarat normalitas dan homogenitas, analisis dilanjutkan dengan uji *independent t-test* pada tingkat kepercayaan 95% (P<0,05). Sementara

itu, jika data tidak terdistribusi normal, analisis dilakukan menggunakan uji non parametrik *Mann-Whitney*.

### 3.7 Skema Rancangan Penelitian



Gambar 3. 1 Skema Rancangan Penelitian

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Determinasi Tanaman

Sampel daun jeruju untuk penelitian ini diperoleh dari area tepi pantai di Kecamatan Negara, Kabupaten Jembrana, Bali. Identifikasi tanaman melalui proses determinasi dilaksanakan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Malang, untuk memverifikasi ketepatan identitas tanaman dan menghindari kesalahan pengambilan sampel. Berdasarkan hasil determinasi yang tercantum pada Lampiran 1, terkonfirmasi bahwa daun jeruju yang digunakan untuk sampel penelitian adalah daun tanaman spesies *Acanthus ilicifolius*.



Gambar 4. 1 Daun Jeruju (*A. ilicifolius*) (Dokumentasi pribadi)

### 4.2 Ekstraksi

Ekstraksi daun jeruju dilakukan menggunakan metode ultrasonikasi. Metode ekstraksi ultrasonik menghasilkan tiga efek yang saling berkaitan yaitu efek termal, mekanis, dan kavitasi. Efek-efek ini meningkatkan efisiensi penetrasi pelarut ke dalam sel sehingga mempercepat proses perpindahan massa. Di samping itu, gelombang ultrasonik dapat memecah dinding sel yang memudahkan keluarnya kandungan dalam sel (Shen dkk., 2023). 100 mg serbuk daun jeruju diekstraksi dan menghasilkan ekstrak kental daun jeruju berwarna hijau pekat kehitaman dengan rendemen sebesar 7,35 % sebagaimana terlihat seperti pada Lampiran 2. Berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia (2017), rendemen ekstrak kental dari

daun jeruju adalah tidak kurang dari 30,1%. Ketidaksesuaian hasil tersebut dapat disebabkan karena terdapat perbedaan metode dan pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi. Hasil persen rendemen ekstrak yang kecil juga dapat disebabkan karena proses ekstraksi yang dilakukan tanpa pengulangan (re-ekstraksi), sehingga proses penarikan senyawa pada sampel oleh pelarut tidak optimal. Waktu ekstraksi dan kepolaran pelarut dapat menjadi faktor yang mempengaruhi hasil rendemen ekstraksi. Umumnya, waktu ekstraksi yang lebih lama dan kesesuaian polaritas pelarut dengan senyawa yang akan diekstrak dapat menghasilkan rendemen ekstrak yang lebih besar (Suhendra dkk., 2019 dan Pusparida dkk., 2023).

### 4.3 Skrining Fitokimia

Identifikasi senyawa metabolit dalam ekstrak etanol daun jeruju dilakukan melalui analisis fitokimia. Sebagaimana terlihat pada tabel 4.1, hasil pengujian melalui uji reaksi warna menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jeruju memiliki kandungan berupa golongan senyawa alkaloid, flavonoid, fenol dan terpenoid.

Tabel 4.1 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jeruju

Senyawa kimia	Uji	Hasil
Alkaloid	Uji Dragendorff	+
	Uji Mayer	+
Flavonoid	Uji H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	+
	Uji Shinoda	-
	Reagen Alkali	+
Saponin	Uji buih	-
Fenol	Uji FeCl	+
Terpenoid	Uji Salkowski	+

Hasil skrining fitokimia tersebut sesuai dengan penelitian Aisiah dkk. (2022), bahwa ekstrak etanol daun jeruju mengandung golongan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin, fenolik, steroid, dan terpenoid. Sedangkan pada penelitian lain, karakteristik fitokimia ekstrak etanol daun jeruju memiliki kandungan golongan senyawa flavonoid, fenol, saponin dan terpenoid (Vani dkk., 2018; Tarigan dkk., 2023 dan Islam dkk., 2024). Perbedaan kandungan

metabolit dalam ekstrak tanaman tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan tempat tumbuh tanaman. Ketinggian suatu tempat yang berbeda dapat menghasilkan perbedaan kondisi lingkungan. Ketinggian tempat menyebabkan perbedaan suhu, paparan cahaya, kandungan nutrisi tanah dan kelembapan. Parameter-parameter tersebut sangat mempengaruhi aktivitas fotosintesis tumbuhan dan memiliki korelasi dengan produksi metabolit primer dan sekunder dalam tanaman (Lestari dkk., 2021).

#### 4.4 Penetapan Kadar Flavonoid Total

Pengukuran kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol daun jeruju dilakukan menggunakan larutan standar rutin dalam seri konsentrasi 80, 100, 150, 200, dan 250  $\mu\text{g/mL}$ . Rutin digunakan sebagai standar untuk pengujian karena daun jeruju mengandung senyawa rutin sebagai metabolit sekunder. Absorbansi diukur pada spektrum dengan panjang gelombang 425 nm. Persamaan regresi linear hasil plotting antara konsentrasi dengan absorbansi yang diperoleh adalah  $y = 0,0023x + 0,0174$  dengan nilai  $R^2$  sebesar 0,9967. Data kurva kalibrasi rutin terlihat seperti terlihat pada Lampiran 4.

Tabel 4.2 Hasil Pengukuran Kadar Flavonoid Total

Sampel	TFC (mg RE/g Ekstrak)	%b/b
Replikasi 1	30,217	3,022
Replikasi 2	29,245	2,924
Replikasi 3	28,057	2,806
Rata-rata $\pm$ SD	29,173 $\pm$ 0,765	2,917

Pengukuran kadar flavonoid pada sampel diulang dalam 3 kali pengukuran. Rerata kadar flavonoid total yang diperoleh dalam ekstrak etanol daun jeruju yaitu sebesar 29,173 mg RE/gram ekstrak $\pm$ 0,765 atau 2,917%. Berdasarkan hasil tersebut, maka 1 gram ekstrak etanol daun jeruju mengandung setara 29,173 mg rutin. Hasil pengukuran menunjukkan kesesuaian dengan syarat yang terdapat di dalam Farmakope Herbal Indonesia (2017) bahwa kandungan flavonoid total dalam ekstrak daun jeruju yang dihitung sebagai rutin adalah tidak kurang dari 2,00%.

Penelitian oleh Hakim dkk. (2024) menunjukkan bahwa kadar flavonoid total pada ekstrak etanol daun jeruju hasil maserasi diperoleh sebesar 7,14 mg QE/gram ekstrak (0,714%). Sedangkan kadar flavonoid total pada ekstrak etanol daun jeruju hasil maserasi kinetik diperoleh sebesar 5,64 mg QE/gram ekstrak (0,564%). Penelitian lain yang dilakukan oleh Islam dkk. (2024) mendapatkan hasil bahwa kadar total flavonoid dari ekstrak etanol daun jeruju sebesar 10,87 mg CE/gram ekstrak (1,087%).

#### 4.5 Uji Aktivitas Antiinflamasi

Pengujian aktivitas antiinflamasi dengan metode penghambatan denaturasi protein merupakan analisis awal potensi suatu tanaman dalam memberikan kemampuan aktivitas antiinflamasi secara *in vitro*. Metode ini banyak digunakan, sensitif dan tervalidasi untuk menganalisis aktivitas antiinflamasi dari suatu tanaman. Aktivitas antiinflamasi dinilai dari kemampuan tanaman dalam menghambat salah satu tahapan dalam proses inflamasi yaitu denaturasi protein. Pada saat protein terdenaturasi akan terbentuk antigen yang akan memicu reaksi hipersensitif tipe III sehingga menyebabkan sel-sel inflamasi aktif (Akinyemi dkk., 2021).

Pengujian ini menggunakan protein *Bovine Serum Albumin* (BSA) sebagai indikator denaturasi protein karena memiliki kepekaan yang tinggi dibandingkan dengan indikator albumin lainnya (Farida dkk., 2018) serta memiliki struktur yang mirip dengan *Human Serum Albumin* (HSA) (Yildiz dkk., 2020). Protein dapat mengalami denaturasi akibat pemanasan. Protein dapat kehilangan bentuk aslinya atau rusak karena energi kinetik akan meningkat saat pemanasan dan mengakibatkan molekul-molekul protein bergerak sangat cepat (Farida dkk., 2018).

Uji penghambatan denaturasi protein dilakukan pada tiga kelompok yaitu kontrol negatif, kontrol positif, dan ekstrak etanol daun jeruju dengan masing-masing pengujian sebanyak tiga replikasi. Natrium diklofenak dipilih sebagai kontrol positif karena merupakan salah satu obat golongan NSAID yang memiliki kemampuan untuk menghambat denaturasi protein. Selain itu, kemampuannya

dalam mengatasi inflamasi (peradangan) tergolong cepat. Natrium diklofenak juga mudah larut dalam berbagai pelarut organik termasuk etanol (Novika dkk., 2021).

Hasil pengukuran protein yang terdenaturasi dengan spektrofotometri UV-Vis ditunjukkan pada Lampiran 5.2. Berdasarkan hasil pengamatan secara visual, peningkatan kekeruhan pada larutan uji mengindikasikan terjadinya proses denaturasi pada protein. Aktivitas antiinflamasi ditandai dengan penurunan nilai absorbansi dan peningkatan persentase inhibisi. Senyawa uji dikatakan memiliki potensi penghambatan denaturasi protein jika persen penghambatannya > 20% (Williams dkk, 2002).

Tabel 4.3 Hasil Penghambatan Denaturasi Protein

Konsentrasi Sampel ( $\mu\text{g/mL}$ )	% inhibisi	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
5	33,577	15,996 <sup>a</sup> $\pm$ 0,102
10	44,408	
20	56,458	
40	79,494	
50	25,744	
75	28,340	207,706 <sup>b</sup> $\pm$ 0,350
150	37,838	
200	49,601	
250	57,634	

Keterangan: Huruf *superscript* (a,b) yang berbeda pada nilai  $\text{IC}_{50}$  dalam baris yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ )

Berdasarkan uji statistik pada nilai  $\text{IC}_{50}$  yang dapat dilihat pada Lampiran 5.3, didapatkan adanya perbedaan yang signifikan antara nilai  $\text{IC}_{50}$  natrium diklofenak dan ekstrak etanol daun jeruju. Nilai  $\text{IC}_{50}$  dari natrium diklofenak dan ekstrak etanol daun jeruju pada Tabel 4.3 dihitung menggunakan persamaan regresi linear antara konsentrasi (X) dan % inhibisi (Y). Nilai  $\text{IC}_{50}$  natrium diklofenak yang didapatkan lebih rendah dari ekstrak yaitu sebesar 15,977  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil pengukuran tersebut tidak jauh berbeda dengan penelitian Rahmawati dkk. (2020) yang mendapatkan nilai  $\text{IC}_{50}$  natrium diklofenak sebesar 13,490  $\mu\text{g/mL}$ . Penelitian oleh Novika dkk. (2021) juga mengkonfirmasi bahwa nilai  $\text{IC}_{50}$  dari natrium diklofenak sebesar 14,93  $\mu\text{g/mL}$ . Natrium diklofenak merupakan senyawa tunggal dengan aktivitas

farmakologis sebagai penghambat inflamasi. Dengan demikian, meskipun dalam konsentrasi rendah, natrium diklofenak mampu menghambat proses denaturasi protein.

Persentase inhibisi denaturasi protein dari masing-masing konsentrasi natrium diklofenak dan ekstrak etanol daun jeruju telah menunjukkan kemampuan penghambatan denaturasi protein karena persentase penghambatannya > 20%. Semakin besar konsentrasi natrium diklofenak dan ekstrak etanol daun jeruju, kemampuan antiinflamasinya semakin besar. Natrium diklofenak telah menunjukkan kemampuan penghambatan denaturasi protein pada konsentrasi 5  $\mu\text{g/mL}$ , sedangkan pada ekstrak kemampuan penghambatannya dimulai pada konsentrasi 50  $\mu\text{g/mL}$ .

Ekstrak etanol daun jeruju memiliki beragam komponen senyawa metabolit yang menunjukkan berbagai aktivitas sehingga kemampuan penghambatannya lebih rendah dari natrium diklofenak. Sebagaimana ditunjukkan dalam penelitian Patel & Zaveri (2014), ketika senyawa tanaman dengan aktivitas antiinflamasi difraksinasi maupun diisolasi, potensi antiinflamasinya dapat meningkat secara signifikan dibandingkan dalam bentuk ekstrak kasar. Penelitian oleh Yanuarini dkk. (2018) juga menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun jeruju dan senyawa isolat menunjukkan aktivitas antiinflamasi melalui penurunan volume udem yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak metanol daun jeruju.

Beberapa tanaman dengan famili Acanthaceae menunjukkan aktivitas penghambatan denaturasi protein. Ekstrak etanol *Barleria noctiflora* L. menunjukkan aktivitas penghambatan denaturasi dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  sebesar 163,94  $\mu\text{g/mL}$  (Manjula & Ganthi, 2018). Penelitian oleh Jacob & Chakraborty (2024), ekstrak daun *Lepidagathis ananthapuramensis* menunjukkan nilai  $\text{IC}_{50}$  yang berbeda pada masing-masing pelarut yaitu 234,27  $\mu\text{g/mL}$  (petroleum eter); 128,70  $\mu\text{g/mL}$  (kloroform); 118,60  $\mu\text{g/mL}$  (aseton); 89,12  $\mu\text{g/mL}$  (metanol) dan 97,05  $\mu\text{g/mL}$  (aquades). Ekstrak daun metanol *Justicia gendarussa* memiliki nilai  $\text{IC}_{50}$  sebesar 180,24  $\mu\text{g/mL}$ , sedangkan fraksi toluene dari daun *J. gendarussa* memiliki nilai  $\text{IC}_{50}$  sebesar 153,25  $\mu\text{g/mL}$  (Patel & Zaveri, 2014).

Berdasarkan hasil analisis fitokimia diatas, ekstrak etanol daun jeruju memiliki beberapa golongan senyawa metabolit yang terkandung di dalamnya yaitu alkaloid, flavonoid, fenol, dan terpenoid. Senyawa tersebut diduga mampu memberikan aktivitas penghambatan denaturasi melalui interaksi dengan protein. Senyawa dengan aktivitas antiinflamasi akan berikatan dengan BSA pada bagian area yang kaya tirosin aromatik dan treonin alifatik. Ikatan tersebut akan memperkuat dan menstabilkan struktur protei sehingga dapat mencegah terjadinya denaturasi protein akibat pemanasan (Williams dkk., 2002).

Senyawa flavonoid memiliki mekanisme aksi yang serupa dengan obat-obat antiinflamasi nonsteroid dalam menghambat proses inflamasi. Senyawa flavonoid termasuk senyawa turunan apigenin dan rutin dilaporkan memiliki aktivitas farmakologis antiinflamasi. Aktivitas antiinflamasi senyawa tersebut ditunjukkan dengan penghambatan produksi sitokin proinflamasi dan memodulasi jalur persinyalan yang terlibat dalam inflamasi. Apigenin dan rutin diketahui dapat menekan aktivasi jalur NF-kB dan MAPK serta ekspresi iNOS (Ali dkk., 2017). Flavonoid diketahui dapat menstabilkan struktur protein melalui pembentukan ikatan hidrogen dengan protein. Selain itu, senyawa flavonoid mampu menghambat sekresi histamin dari sel mast serta menghambat terbentuknya asam arakidonat sehingga prostaglandin pada jalur siklooksigenase dan lipooksigenase tidak terbentuk (Ikhwan dkk., 2020).

Senyawa terpenoid dalam ekstrak seperti *ursolic acid*, *lupeol*, *oleanolic acid*, dan  $\beta$ -*amyrin* dan  $\alpha$ -*amyrin* diduga berperan dalam memberikan aktivitas antiinflamasi. Mekanisme terpenoid sebagai antiinflamasi dapat melalui berbagai jalur penghambatan dalam proses inflamasi. Terpenoid sebagai *membrane stabilization* dapat mencegah kerusakan protein membran sehingga mampu menghambat denaturasi protein. Selain itu, terpenoid juga dapat menghambat pembentukan prostaglandin dengan menekan ekspresi iNOS, LOX dan COX (Prakash, 2017).

Senyawa alkaloid dan fenolik juga diduga memiliki peran dalam aktivitas antiinflamasi. Senyawa 2-benzoxazolinon dan benzoxazinoid dalam *A. ilicifolius* teridentifikasi sebagai agen antiinflamasi. Senyawa alkaloid berikatan dengan

protein melalui ikatan hidrogen sehingga dapat mempertahankan konformasi protein. Selain itu, alkaloid memiliki kemampuan penghambatan terhadap proses pelepasan histamin dari sel mast, menurunkan produksi IL-1 yang dihasilkan monosit serta mengurangi PAF (*Platelet Activating Factor*) pada trombosit (Luliana dkk., 2017). Senyawa fenol *phenylethanoid* juga diduga memberikan efek antiinflamasi (Zhang dkk., 2023). Fenol mampu menetralkan radikal bebas yang berpotensi mendenaturasi protein atau berikatan dengan protein sehingga struktur protein tetap stabil. Selain itu, fenol dapat menghambat beberapa pengatur utama respons inflamasi, seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-6. Fenol juga dapat bersifat antiinflamasi dengan menonaktifkan enzim proinflamasi seperti LOX dan COX (Liu dkk., 2023).

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun jeruju memiliki kandungan berupa golongan senyawa alkaloid, flavonoid, fenol dan terpenoid.
2. Ekstrak etanol daun jeruju mengandung kadar flavonoid total sebesar 29,173 mg RE/gram ekstrak (2,917%).
3. Ekstrak etanol daun jeruju memiliki kemampuan penghambatan denaturasi protein yang lebih rendah dari natrium diklofenak dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 207,706  $\mu\text{g/mL}$ .

### 5.2 Saran

Penelitian ini dapat dijadikan sebagai referensi oleh peneliti lain dalam mengembangkan penelitian lebih mendalam terkait potensi aktivitas antiinflamasi daun jeruju menggunakan metode pengujian *in vitro* yang berbeda dan pengujian *in vivo* atau menggunakan pelarut berbeda. Selain itu, pengujian juga dapat dilanjutkan dengan menganalisis senyawa fraksi atau isolat dari daun jeruju yang berpotensi memiliki aktivitas penghambatan inflamasi sehingga dapat mengoptimalkan penggunaan daun jeruju sebagai alternatif pengobatan inflamasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- [USDA] United State Departement of Agriculture. (2024). USDA National Nutrient Database for Standard Reference. [Diakses pada 25 Oktober 2024].
- Abimanyu, A., Wirawan, I. G. P., & Suada, I. K. (2022). Ekologi Tanaman Jeruju Hitam (*Acanthus ilicifolius*) dan Jeruju Putih (*Acanthus ebracteatus*) di Bali. *Nandur*, 2(3), 2746–6957.
- Adiyasa, M. R., & Meiyanti, M. (2021). Pemanfaatan Obat Tradisional di Indonesia: Distribusi dan Faktor Demografis yang Berpengaruh. *Jurnal Biomedika dan Kesehatan*, 4(3), 130–138.
- Aisiah, S., Rini, R. K., Tanod, W. A., Fatmawati, F., Fauzana, N. A., Olga, O., & Riyadi, P. H. (2022). Metabolomic Profiling of Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Leaf Extract with Antioxidant and Antibacterial Activity on *Aeromonas hydrophila* Growth. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 12(8), 057–069.
- Akinyemi, E. B., Babatunde, S., Feyisayo, A. K., & Michael, O. W. (2021). Membrane Stabilization and Inhibition of Protein Denaturation as Mechanisms of The Anti-inflammatory Activity of Some Plant Species. *Trends in Pharmaceutical Sciences*, 7(4), 269–278.
- Ali, F., Rahul, Naz, F., Jyoti, S., & Siddique Y., H. (2017). Health Functionality of Apigenin: A Review. *International Journal of Food Properties*, 20(6), 1197–1238.
- Aluri, J. S. R., Bethapudi, R., & Chappidi, P. R. (2017). Reproductive Ecology of *Acanthus ilicifolius* L., a Non-Viviparous Mangrove Associate in Coringa Mangrove Forest, Andhra Pradesh (India). *Transylvanian Review of Systematical and Ecological Research*, 19(3), 17–28.
- Bora, R., Adhikari, P. P., Das, A. K., Raaman, N., & Sharma, G. D. (2017). Ethnomedicinal, Phytochemical, and Pharmacological Aspects of Genus *Acanthus*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 9(12), 18–25.
- Chanda, S., & Juvekar, A. R. (2018). In Vitro Anti-Inflammatory Activity of Syringic Acid. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 11(2), 71–73.
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., & Zhao, L. (2018). Inflammatory Responses and Inflammation-Associated Diseases in Organs. *Oncotarget*, 9(6), 7204–7218.
- Dharmadeva, S., Galgamuwa, L. S., Prasadinie, C., & Kumarasinghe, N. (2018). In Vitro Anti-Inflammatory Activity of *Ficus racemosa* L. Bark Using Albumin

- Denaturation Method. *AYU (An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda)*, 39(4), 239–242.
- Ernianingsih, S. W., Mukarlina & Rizalinda. (2014). Etnofarmakologi Tumbuhan Mangrove *Acanthus ilicifolius* L., *Acrostichum speciosum* L. dan *Xylocarpus rumphii* Mabb. Di Desa Sungai Tekong Kecamatan Sungai Kakap Kabupaten Kubu Raya. *Protobiont*, 3(2), 252–258.
- Farida, Y., Deni, R. & Amanda, A. W. (2018). Uji Aktivitas Antiinflamasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 16(2), 225–230.
- Gonfa, Y. H., Tessema, F. B., Bachheti, A., Rai, N., Tadesse, M. G., Singab, N. A., Chaubey, K. K., & Bachheti, R. K. (2023). Anti-Inflammatory Activity of Phytochemicals from Medicinal Plants and Their Nanoparticles: A Review. In *Current Research in Biotechnology*, 6, 1–16.
- Hakim, A. R., Saputri, R., Jannah, G. R., & Syifa, N. (2024). Pengaruh Pengadukan Maserasi Terhadap Kadar Flavonoid Total Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.). *Sains Medisina*, 3(1), 29–31.
- Handayani, S., Najib, A., & Wati, N. P. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* L.) dengan Metode Perendaman Radikal Bebas 1,1-Diphenyl-2-picrylhidrazil (DPPH). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(6), 299–308.
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia; Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, Terbitan Kedua, Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. ITB, Bandung
- Hariana, A. (2013). *262 Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta. Penebar Swadaya.
- Ikhwan, D., Rachmadi, O., Putri, A. D. A., & Widiyantoro, A. (2020). Reduksi Udem Kaki Mencit (*Mus musculus*) Terinduksi Karagenan Setelah Pemberian Ekstrak Daruju (*Acanthus ilicifolius* L.). *Jurnal Farmasi Indonesia*, 17(2), 86–91.
- Irawanto, R., Ariyanti, E. E., & Hendrian, R. (2015). Jeruju (*Acanthus ilicifolius*): Biji, Perkecambahan dan Potensinya. *Pros Semnas Masy Biodiv Indon*, 1(5), 1011–1018.
- Islam, M. S., Islam, M. T., Washim, M. R., Haque, A. T., Haque, M. I., Islam, H. R., Rashid, M. R., & Mahmud, Y. (2024). Antioxidant Potentials of *Acanthus ilicifolius* Leaves from Southwest Coastal Region of Bangladesh. *Food Chemistry Advances*, 5, 1–8.
- Jacob, A., & Chakraborty, G. S. (2024). Pharmacognostical, Phytochemical and In Vitro AntiInflammatory Evaluation of Leaf and Stem Extracts of *Lepidagathis ananthapuramensis*. *African Journal of Biomedical Research*, 27(4s), 2403–2414.

- Józefowski, S., & Marcinkiewicz, J. (2010). Aggregates of Denatured Proteins Stimulate Nitric Oxide and Superoxide Production in Macrophages. *Inflammation Research*, 59, 277–289.
- Kementerian Kesehatan RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kementerian Kesehatan RI. (2018). *Data dan Informasi Profil Kesehatan*. Jakarta. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Khan, M. W. A., & Khan, W. A. (2019). Autoantibodies and Cytokines in Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. IntechOpen.
- Kumar, K. T. M. S., Gorain, B., Roy, D. K., Zothanpuia, Samanta, S. K., Pal, M., Biswas, P., Roy, A., Adhikari, D., Karmakar, S., & Sen, T. (2008). Anti-Inflammatory Activity of *Acanthus ilicifolius*. *Journal of Ethnopharmacology*, 120(1), 7–12.
- Lestari, S., Aryani, R. D., & Palupi, D. (2021). Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh Terhadap Kandungan Fitokimia dan Antioksidan Ekstrak Akar Sawi Langit (*Vernonia cinerea* L.). *Biotropic: The Journal of Tropical Biology*, 5(2), 84–93.
- Liu, W., Cui, X., Zhong, Y., Ma, R., Liu, B., & Xia, Y. (2023). Phenolic Metabolites as Therapeutic in Inflammation and Neoplasms: Molecular Pathways Explaining Their Efficacy. *Pharmacological Research*, 193, 1–10.
- Luliana, S., Susanti, R., & Agustina, E. (2017). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Air Herba Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Karagenan. *Traditional Medicine Journal*, 22(3), 199–205.
- Mamarimbing, M. S., Putra, I. G. N. A. D., & Setyawan, E. I. (2022). Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Humantech: Jurnal Ilmiah Multidisiplin Indonesia*, 2(3), 502–508.
- Mamfaluthi, T. (2018). Penggunaan Kortikosteroid dalam Praktek Klinis. *Jurnal Kedokteran Nanggroe Medika*, 1(1), 70–74.
- Manjula, M. S., & Ganthi, A. S. (2018). In-vitro antioxidant and anti-inflammatory potential of ethanol extracts (root and aerial parts) of *Barleria noctiflora*. *Ann. Plant Sci*, 7, 1997-2001.
- Mukhriani. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), 361–367.
- Muthmainnah, B. (2019). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) Dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi*, 13(2), 36-41.

- Nirmala, A. R., Permatasari, L., Muliastuti, H., & Deccati, R. F. (2023). Review: Analisis Kondisi Optimal Metode Penghambatan Denaturasi Protein *Bovine Serum Albumin* (BSA) Pada Pengujian Aktivitas Antiinflamasi berbagai Ekstrak Daun Tanaman. *Journal of Agritechology and Food Processing*, 3(2), 101–113.
- Novika, D. S., Ahsanunnisa, R., & Yani, D. F. (2021). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Penghambatan Denaturasi Protein. *Stannum: Jurnal Sains Dan Terapan Kimia*, 3(1), 16–22.
- Patel, S. S., & Zaveri, M. N. (2014). Trypsin and Protein Denaturation Inhibitory Activity of Different Fractionation and Isolated Compound of Leaf and Root of *Justicia gendarussa*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(12), 5564–5571.
- Prakash, V. (2017). Terpenoids as Source of Anti-inflammatory Compounds. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(3), 68–76.
- Pusparida, N. A., Tutik, T., & Amalia, P. (2023). Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Fenolik Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Medika Malahayati*, 7(2), 614–626.
- Rahmawati, Widiastuti, H., & Sulistya, E. (2020). In Vitro Anti-Inflammatory Assay of Bitter Melon (*Momordica charantia* L.) Ethanol Extract. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 7(3), 1–4.
- Ramadhan, M. H., Utami, N. H., & Mahrudin. (2023). Studi Etnobotani Tumbuhan Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Pada Masyarakat Banjar Desa Pagatan Besar, Kabupaten Tanah Laut. *Jurnal Jeumpa*, 10(1), 1–11.
- Rizeki, E., Safrida, S., & Supriatno. (2020). Ethanol Extract from *Acanthus ilicifolius* L. Leaves as Anti-Inflammatory Ulcers in *Mus musculus* L. *Journal of Physics: Conference Series*, 1460(1), 1–6.
- Salis, Z., & Sainsbury, A. (2024). Association of Long-Term Use of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs with Knee Osteoarthritis: A Prospective Multi-Cohort Study over 4-to-5 Years. *Scientific Reports*, 14(1), 1–13.
- Saranya, A., Ramanathan, T., Kesavanarayanan, K. S., & Adam, A. (2015). Traditional Medicinal Uses, Chemical Constituents and Biological Activities of a Mangrove Plant, *Acanthus ilicifolius* Linn. : A Brief Review. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci*, 15(2), 243–250.
- Shen, L., Pang, S., Zhong, M., Sun, Y., Qayum, A., Liu, Y., Rashid, A., Xu, B., Liang, Q., Ma, H., & Ren, X. (2023). A Comprehensive Review of Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) for Bioactive Components: Principles, Advantages, Equipment, and Combined Technologies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 101, 1–24.

- Soleha, M., Isnawati, A., Fitri, N., Adelina, R., Soblia, H. T., & Winarsih. (2018). Profil Penggunaan Obat Antiinflamasi Nonstereoid di Indonesia. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 8(2), 109–117.
- Suhendra, C. P., Widarta, I. W. R., & Wiadnyani, A. A. I. S. (2019). Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 8(1), 27–35.
- Tarigan, I. L., Kharisma, T., Bemis, R., Sutrisno, & Latief, M. (2023). Encapsulation of Ethanol Extract of Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) Leaves and Its Anti-inflammatory Activities Against Carrageenan-Induced Mice. *Molekul*, 18(3), 468–478.
- Tukiran, Suyatno, Sabila, F. I., & Saro, A. K. (2023). Kadar Total Flavonoid dan Aktivitas Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Etanol Secang (*Caesalpinia sappan* L.) dan Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roxb.) Terhadap Penghambatan Denaturasi Protein Bovien Serum Albumin. *Journal Cis-Trans*. 7(1), 31–39.
- Vani, M., & Manikandan, T. (2018). Phytochemical Analysis and Antioxidant Activity of *Acanthus ilicifolius*. *International Journal of Current Research*, 10(12), 76891–76896.
- Velmani S, Perumal, B., Santhosh, C., Vetrivel, C., & Maruthupandian, A. (2016). Phytochemical and Traditional Uses on *Acanthus ilicifolius* (L). *Journal of Advanced Applied Scientific Research*, 1(3), 43–48.
- Vimalkumar, C. S., Hosagaudar, V. B., Suja, S. R., Vilash, V., Krishnakumar, N. M., & Latha, P. G. (2014). Comparative Preliminary Phytochemical Analysis of Ethanolic Extracts of Leaves of *Olea dioica* Roxb., Infected with The Rust Fungus *Zaghouania oleae* (EJ Butler) Cummins and Non-infected Plants. *Journal of Pharmacognosy and phytochemistry*, 3(4), 69–72.
- Wahid, A. R. & Safwan. (2020). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Terhadap Ekstrak Tanaman Ranting Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 1(1), 24–27.e
- Wahyuningsih, S., Yunita, I., Sundari, U. Y., Pagalla, D. B., Kalalinggi, S. Y., Alpian, Nurmallasari, E., Suryandani, H., Ramlah, & Nasrullah, M. (2024). *Ekstraksi Bahan Alam*. CV. Gita Lentera Redaksi.
- Williams, L. A. D., Vasquez, E. A, Milan, P. P, Zebitz, C., & Kraus, W. (2002). In Vitro Anti-Inflammatory and Anti-Microbial Activities of Phenylpropanoids from *Piper betle* (Piperaceae). In *Proceeding of the Phytochemical Society of Europe: Natural products in the new millennium: Prospects and industrial application*. 74: 221 – 227.

- Yanuarini, A. N., Widiyantoro, A., & Destiarti, L. (2018). Senyawa Antiinflamasi dari Fraksi Etil Asetat Daun Daruju (*Acanthus ilicifolius*) Terhadap Udem Kaki Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Karagenan. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 7(2), 82–88.
- Yıldız, A., Kara, A. A., & Acartürk, F. (2020). Peptide-Protein Based Nanofibers in Pharmaceutical and Biomedical Applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 148, 1084–1097.
- Zhang, Y., Shen, J., Ma, X., He, Y., Zhang, Y., Cao, D. (2023). Anti-Inflammatory Activity of Phenylethanoids from *Acanthus ilicifolius* var. *xiamenensis*. *J Med Food*, 26(2), 135–145.
- Zohora, F. T., Hasan, A. H. M. N., Alam, K. M. K., & Wahed, T. B. (2023). Traditional Use, Phytochemistry, Pharmacological and Toxicological Properties of *Acanthus ilicifolius*: A Review. *Journal of Biosciences and Medicines*, 11(05), 181–192.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR  
DINAS KESEHATAN  
**UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU**  
Jalan Lahor Nomor 87, Pesanggrahan, Kota Batu, Jawa Timur 65313  
Telepon 0341 593396, Laman [materiamedica.jatimprov.go.id](http://materiamedica.jatimprov.go.id),  
Pos el [materiamedicabatu@jatimprov.go.id](mailto:materiamedicabatu@jatimprov.go.id)

Batu, 26 Februari 2025

Nomor : 000.9.3/656/102.20/2025  
Sifat : Terbuka  
Hal : Determinasi Tanaman Jeruju

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : PUTRI NUR KHAFIFAH  
NIM/NIP/NIK : 212210101092  
Fakultas : FARMASI, UNIVERSITAS JEMBER

1. Perihal determinasi tanaman jeruju/ daruju  
Famili : Acanthaceae  
Genus : Acanthus  
Spesies : *Acanthus ilicifolius* L.  
Nama Umum : Jeruju, daruju, deruju, Holly-leaved Acanthus, Sea Holly, Holy Mangrove.  
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b-248b-249b-250b-266b-267b-273b-276b-278b-279b-282b-283b-284b-285b:Acanthaceae-1a-2a-3a-4a-5a:Acanthus-7-1a:*A.ilicifolius*.
2. Morfologi : Habitus: Herba rendah, terjal di permukaan tanah. Batang: Agak berkayu, ketinggian hingga 2m; cabang umumnya tegak; percabangan tidak banyak dan umumnya muncul dari bagian yang lebih tua. Daun: Permukaan daun halus, tepi daun bervariasi, zigzag/bergerigi besar-besar seperti gergaji atau agak rata dan secara gradual menyempit menuju pangkal; letak berlawanan; bentuk lanset lebar, ujung meruncing dan berduri tajam. Bunga: Mahkota bunga berwarna biru muda hingga ungu, kadang agak putih; panjang tandan bunga 10-20 cm; bunga memiliki satu anak daun penutup utama dan dua sekunder; letak di ujung. Buah: Bentuk bulat lonjong; ukuran 2,5- 3 cm. Akar: Akar udara muncul dari permukaan bawah batang horizontal.
3. Bagian yang digunakan : Daun.
4. Penggunaan : Penelitian.
5. Daftar Pustaka
  - Backer, C. A. dan Bakhuizen van Den Brink, R.C. 1965. *Flora OF Java (Spermathopytes only) Vol II*. Wolters-Noordhoff NV, Groningen Netherlands.
  - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

a.n. Kepala UPT Laboratorium Herbal  
Materia Medica Batu  
Kepala Seksi Pengembangan Tanaman  
Obat dan Obat Tradisional



SIBRINA A. MARTHA, SKM., M.Sc.  
Penata  
NIP.198804272014032003

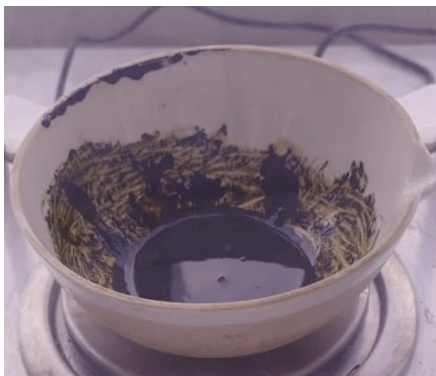
## Lampiran 2. Perhitungan Persentase Rendemen Ekstrak

Bobot simplisia : 100 gram



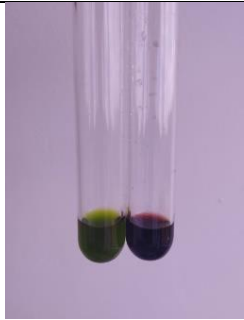
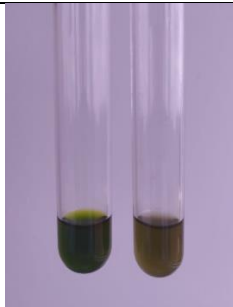
Bobot ekstrak kental yang diperoleh : 7,3505 gram


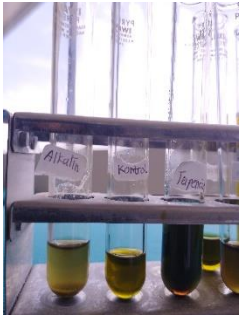
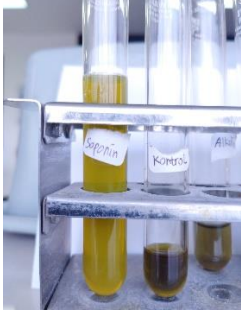

$$\begin{aligned}\% \text{Rendemen} &= \frac{\text{Bobot ekstrak kental}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{7,3505 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 7,3505\%\end{aligned}$$

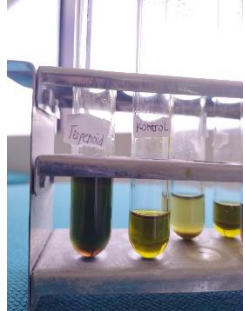
Hasil Ekstraksi



### Lampiran 3. Hasil Skrining Fitokimia Uji Warna

Senyawa Kimia	Uji	Reaksi	Hasil
Alkaloid	Uji Dragendorff	Endapan jingga atau <i>orange</i>	 <p>positif</p>
	Uji Mayer	Endapan putih atau pucat endapan putih atau pucat	 <p>positif</p>
Flavonoid	Uji H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Warna merah	 <p>positif</p>
	Uji Shinoda	Warna merah tua, merah muda atau jingga	 <p>negatif</p>

	Reagen Alkali	Warna kuning pekat, tidak berwarna setelah penambahan asam encer	 <p>Setelah + asam encer</p>  <p>positif</p>
Saponin	Uji buih	Buih atau busa yang stabil selama 15 menit	 <p>negatif</p>
Fenol	Uji FeCl	Warna biru atau hijau	 <p>positif</p>

Terpenoid	Uji Salkowski	Warna biru atau hijau (steroid), warna coklat kemerahan atau ungu (triterpenoid)	 <p data-bbox="1187 636 1278 674">positif</p>
-----------	---------------	--	--

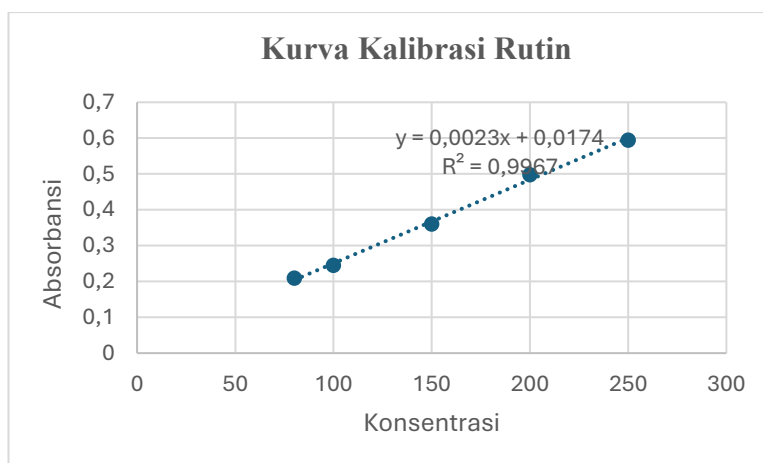
## Lampiran 4. Penentuan Kadar Flavonoid Total

### Lampiran 4.1 Perhitungan Penentuan Kadar Flavonoid Total

#### a. Tabel Kurva Kalibrasi Rutin

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbansi
80	0,209
100	0,245
150	0,360
200	0,498
250	0,594

#### b. Kurva Kalibrasi Rutin



#### c. Perhitungan Kadar Flavonoid Total

Sampel	Absorbansi	TFC (mg RE/g Ekstrak)	%b/b
Replikasi 1	0,577	30,217	3,022
Replikasi 2	0,559	29,245	2,924
Replikasi 3	0,537	28,057	2,806
Rata-rata $\pm$ SD	0,557 $\pm$ 0,02	29,173 $\pm$ 0,765	2,917
CV (%)	3,591	2,622	

**Perhitungan****a. Replikasi 1**

$$y = 0,0023x + 0,0174$$

$$x = \frac{0,577 - 0,0174}{0,0023}$$

$$x = 243,304 \mu\text{g/mL}$$

$$x = 0,243304 \text{ mg/mL}$$

**Persamaan *Total Flavonoid Content* (TFC)**

$$TFC = \frac{V \text{ (mL)} \times X \text{ (mg/mL)}}{\text{g Ekstrak}}$$

$$TFC = \frac{25 \text{ mL} \times 0,234609 \text{ mg/mL}}{0,2013}$$

$$TFC = 30,217 \frac{\text{mg RE}}{\text{g ekstrak}}$$

$$\begin{aligned} \%b/b &= \frac{30,217 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= 3,022 \% \end{aligned}$$

**b. Replikasi 2**

$$x = \frac{0,559 - 0,0174}{0,0023}$$

$$x = 235,478 \mu\text{g/mL}$$

$$x = 0,235478 \text{ mg/mL}$$

**Persamaan *Total Flavonoid Content* (TFC)**

$$TFC = \frac{V \text{ (mL)} \times X \text{ (mg/mL)}}{\text{g Ekstrak}}$$

$$TFC = \frac{25 \text{ mL} \times 0,235478 \text{ mg/mL}}{0,2013}$$

$$TFC = 29,245 \frac{mg RE}{g ekstrak}$$

$$\%b/b = \frac{29,245 mg}{1000 mg} \times 100\%$$

$$= 2,924 \%$$

### c. Replikasi 3

$$x = \frac{0,537 - 0,0174}{0,0023}$$

$$x = 225,913 \mu g/mL$$

$$x = 0,225913 mg/mL$$

### Persamaan *Total Flavonoid Content* (TFC)

$$TFC = \frac{V (mL) \times X(mg/mL)}{g Ekstrak}$$

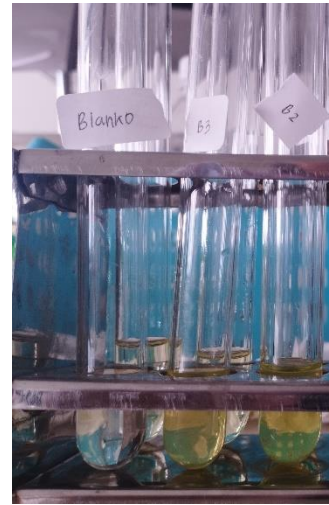
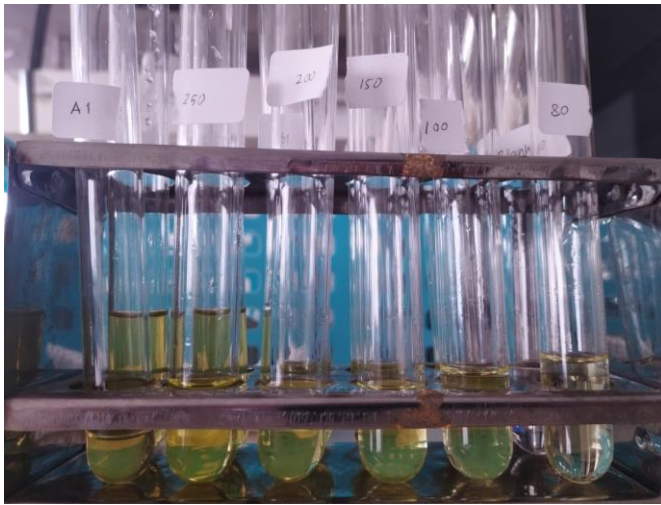
$$TFC = \frac{25 mL \times 0,225913 mg/mL}{0,2013}$$

$$TFC = 28,057 \frac{mg RE}{g ekstrak}$$

$$\%b/b = \frac{28,057 mg}{1000 mg} \times 100\%$$

$$= 2,806 \%$$

#### Lampiran 4.2 Dokumentasi Penentuan Kadar Flavonoid Total



## Lampiran 5. Uji Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein

### Lampiran 5.1 Penyiapan Bahan Uji

- a) Pembuatan larutan *Tris Buffer Saline* (TBS) pH 6,2-6,5

Tris base = 0,605 gram

NaCl = 4,35 gram

ad aquades = 500 mL

- b) Preparasi BSA 0,2% dalam *Tris Buffer Saline* (TBS) pH 6,2-6,5

BSA = 0,2 gram

*Tris Buffer Saline* (TBS) = 100 mL

- c) Preparasi Larutan Kontrol Positif (Natrium Diklofenak)

$$\text{Larutan induk} = \frac{100 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times 1000 = 1000 \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran Konsentrasi	Konsentrasi setelah ditambahkan BSA 0,2%
$\frac{1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times 0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} = 50 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$	$\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 50 = 5 \mu\text{g/mL}$
$\frac{1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times 1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} = 100 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$	$\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 100 = 10 \mu\text{g/mL}$
$\frac{1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times 2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} = 200 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$	$\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 200 = 20 \mu\text{g/mL}$
$\frac{1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times 4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} = 400 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$	$\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 400 = 40 \mu\text{g/mL}$

## d) Preparasi Larutan Uji (Ekstrak Daun Jeruju)

$$\text{Larutan induk 1} = \frac{125 \text{ mg}}{50 \text{ mL}} \times 1000 = 2500 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

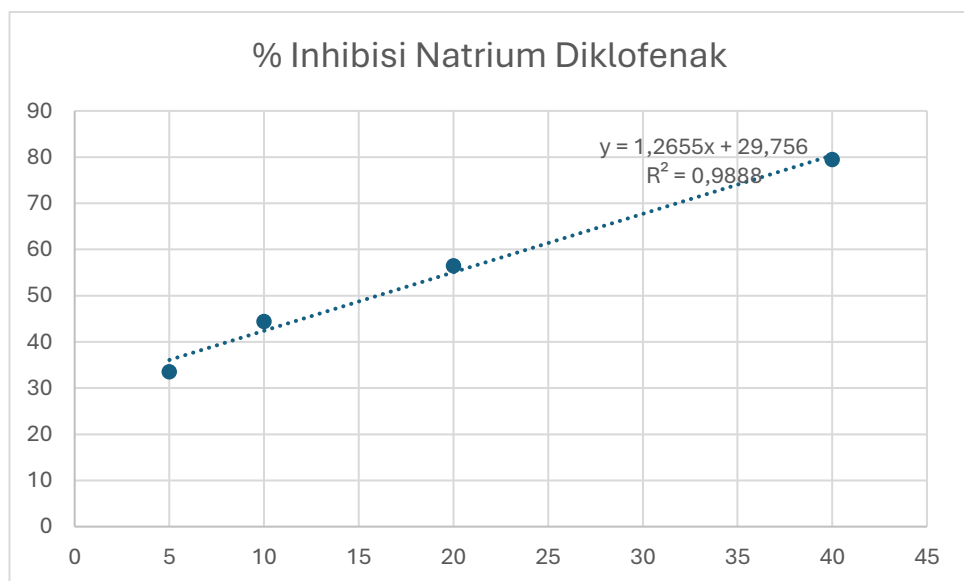
$$\text{Larutan induk 2} = \frac{125 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times 1000 = 5000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Pengenceran Konsentrasi	Konsentrasi setelah ditambahkan BSA 0,2%
$\frac{2500 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times 2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} = 500 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$	$\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 500 = 50 \text{ } \mu\text{g/mL}$
$\frac{2500 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times 3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} = 750 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$	$\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 750 = 75 \text{ } \mu\text{g/mL}$
$\frac{5000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times 3 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} = 1500 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$	$\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 1500 = 150 \text{ } \mu\text{g/mL}$
$\frac{5000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times 4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} = 2000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$	$\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 2000 = 200 \text{ } \mu\text{g/mL}$
$\frac{5000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times 5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} = 2500 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$	$\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 2500 = 250 \text{ } \mu\text{g/mL}$

Lampiran 5.2 Hasil Uji Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein

a) Kontrol Positif (Natrium Diklofenak)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Absorbansi K (-)	Persentase Inhibisi (%)	Rata-rata
5	0,997	1,502	33,622	33,577
	0,998		33,555	
	0,998		33,555	
10	0,830		44,740	44,408
	0,835		44,408	
	0,840		44,075	
20	0,659		56,125	56,458
	0,644		57,124	
	0,659		56,125	
40	0,305		79,694	79,494
	0,314		79,094	
	0,305		79,694	



**Perhitungan IC<sub>50</sub>**

$$y = 1,2655x + 29,756$$

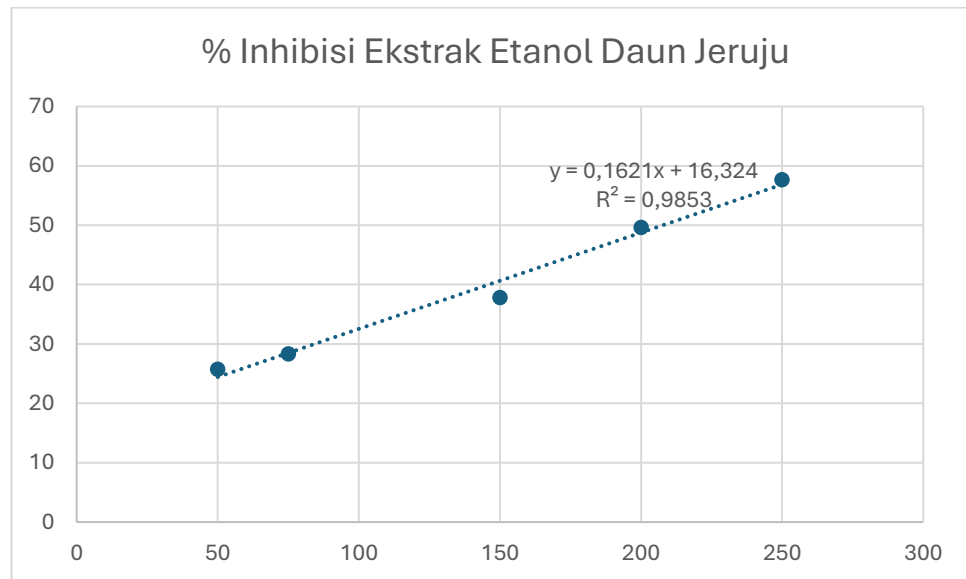
$$50 = 1,2655x + 29,756$$

$$x = \frac{50 - 29,756}{1,2655}$$

$$x = 15,997 \mu\text{g}/\text{mL}$$

## b) Larutan Uji (Ekstrak Etanol Daun Jeruju)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Absorbansi K (-)	Persentase Inhibisi (%)	Rata-rata			
50	1,120	1,502	25,433	25,744			
	1,106		26,365				
	1,120		25,433				
75	1,068		1,502	28,895	28,340		
	1,085			27,763			
	1,076			28,362			
150	0,928			1,502	38,226	37,838	
	0,939				37,483		
	0,934				37,816		
200	0,756				1,502	49,667	49,601
	0,755					49,734	
	0,60					49,401	
250	0,640	1,502				57,391	57,634
	0,636					57,656	
	0,633					57,856	

**Perhitungan IC<sub>50</sub>**

$$y = 0,1621x + 16,324$$

$$50 = 0,1621x + 16,324$$

$$x = \frac{50 - 16,324}{0,1621}$$

$$x = 207,748 \mu\text{g}/\text{mL}$$

## Lampiran 5.3 Analisis Data

Sampel	Nilai IC <sub>50</sub> (µg/mL)	Rata-rata IC <sub>50</sub> ± SD
Natrium diklofenak	Replikasi 1	15,950
	Replikasi 2	15,926
	Replikasi 3	16,113
Ekstrak Etanol Daun Jeruju	Replikasi 1	207,542
	Replikasi 2	208,108
	Replikasi 3	207,469

**Perhitungan**

a) Natrium Diklofenak

**Replikasi 1**

$$y = 1,2659x + 29,809$$

$$50 = 1,2659x + 29,809$$

$$x = \frac{50 - 29,809}{1,2659}$$

$$x = 15,950 \mu g/mL$$

**Replikasi 2**

$$y = 1,2552x + 30,01$$

$$50 = 1,2552x + 30,01$$

$$x = \frac{50 - 30,01}{1,2552}$$

$$x = 15,926 \mu g/mL$$

**Replikasi 3**

$$y = 1,2753x + 29,451$$

$$50 = 1,2753x + 29,451$$

$$x = \frac{50 - 29,451}{1,2753}$$

$$x = 16,113 \mu g/mL$$

## b) Ekstrak Etanol Daun Jeruju

**Replikasi 1**

$$y = 0,1611x + 16,565$$

$$50 = 0,1611x + 16,565$$

$$x = \frac{50 - 16,565}{0,1611}$$

$$x = 207,542 \mu\text{g/mL}$$

**Replikasi 2**

$$y = 0,1617x + 16,349$$

$$50 = 0,1617x + 16,349$$

$$x = \frac{50 - 16,349}{0,1617}$$

$$x = 208,108 \mu\text{g/mL}$$

**Replikasi 3**

$$y = 0,1636x + 16,058$$

$$50 = 0,1636x + 16,058$$

$$x = \frac{50 - 16,058}{0,1636}$$

$$x = 207,469 \mu\text{g/mL}$$

**Analisis Data****Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50_Nadiklo	.342	3	.	.844	3	.226
IC50_Ekstrak	.347	3	.	.834	3	.200

a. Lilliefors Significance Correction

Keterangan: Nilai signifikansi >0,05 artinya data terdistribusi normal

### Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Nilai_IC50	Based on Mean	7.029	1	4	.057
	Based on Median	.677	1	4	.457
	Based on Median and with adjusted df	.677	1	2.313	.487
	Based on trimmed mean	5.840	1	4	.073

Keterangan: Nilai signifikansi  $>0,05$  artinya data homogen

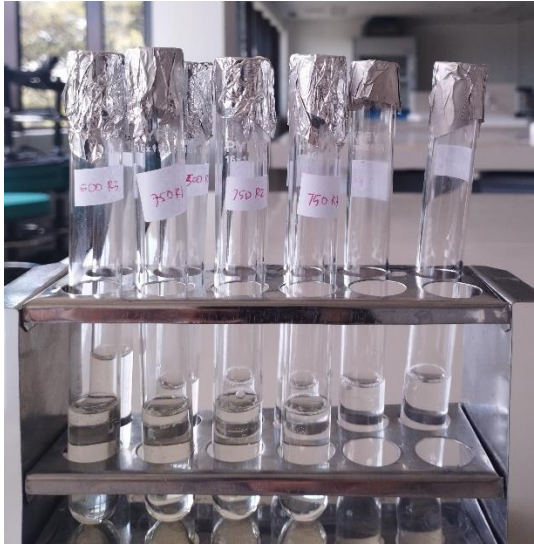
### Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Nilai_IC50	Equal variances assumed	7.029	.057	-910.613	4	.000	-191.71000	.21053	-192.29452	-191.12548
	Equal variances not assumed			-910.613	2.314	.000	-191.71000	.21053	-192.50767	-190.91233

Keterangan : Nilai signifikansi  $<0,05$  mengindikasikan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan diantara dua kelompok sampel

Lampiran 5.4 Dokumentasi Uji Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein

**Larutan uji sebelum perlakuan**



**Larutan uji setelah perlakuan**

