



**UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI *IN VITRO* EKSTRAK
JAMU MEREK X, Y, DAN Z**

SKRIPSI

Oleh:

Asri Kusuma Wardani

NIM 192210101082

BAGIAN BIOLOGI FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2023



**UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI *IN VITRO* EKSTRAK
JAMU MEREK X, Y, DAN Z**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

Asri Kusuma Wardani

NIM 192210101082

BAGIAN BIOLOGI FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2023

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah Swt. yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya bagi hamba-Nya yang sedang berjuang dalam kebajikan
2. Kedua orang tua tercinta, Bapak Tumiran dan Ibu Puji Sri Hastuti, yang telah menyangi, membesarkan, mendidik, mendukung, dan senantiasa mendoakan penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan
3. Diri saya sendiri yang tetap bertahan hingga sampai di tahap ini
4. Kakak Miranda Putri Permatasari yang selalu memahami dan memberikan semangat kepada penulis
5. Kakak Mukhlis Hari Prasetyo, Kakak Yayuk Sri Utami, dan Adik Elvaro Adelard Merish Prasetyo
6. Bapak dan Ibu Guru penulis di SDN Rejosari, SMPN 1 Kawedanan, dan SMAN 2 Madiun serta para dosen dan civitas akademik Fakultas Farmasi Universitas Jember
7. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember

MOTO

Wahai orang-orang yang beriman, mohonlah pertolongan (kepada Allah) dengan sabar dan shalat. Sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar
(Terjemahan Surat *Al-Baqarah* ayat 153)

Man jadda wajada, man shabara zhafira, man sara ala darbi washala
(Pepatah Arab)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Asri Kusuma Wardani

NIM : 192210101082

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Aktivitas Antiinflamasi *In Vitro* Ekstrak Jamu Merek X, Y, dan Z” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan 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 ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 13 Juli 2023

Yang menyatakan,



Asri Kusuma Wardani

NIM 192210101082

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI *IN VITRO* EKSTRAK JAMU
MEREK X, Y, DAN Z**

Oleh:

Asri Kusuma Wardani

NIM 192210101082

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama: apt. Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc

Dosen Pembimbing Anggota: apt. Ari Satia Nugraha, S.F.,GdipSc., Msc-res., PhD

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antiinflamasi *In Vitro* Ekstrak Jamu Merek X, Y, dan Z” karya Asri Kusuma Wardani telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Kamis, 13 Juli 2023

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota



apt. Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc
NIP. 198107232006042002



apt. Ari Satia Nugraha, S.F.,GdipSc.,
Msc-res., PhD
NIP. 197807212003121001

Tim Penguji

Dosen Penguji Utama,

Dosen Penguji Anggota



Dr. apt. Siti Muslichah, S.Si., M.Sc
NIP. 197305132005012001



Dr. apt. Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si
NIP. 197807282005012001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember



Dr. apt. Nuri, S.Si., M.Si
NIP. 196904122001121007

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antiinflamasi *In Vitro* Ekstrak Jamu Merek X, Y, dan Z; Asri Kusuma Wardani, 192210101082; 2023: 71 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Inflamasi merupakan respon tubuh yang berfungsi sebagai mekanisme pertahanan cepat untuk melawan patogen potensial, membatasi kerusakan jaringan lebih lanjut, dan merangsang mekanisme perbaikan jaringan. Pada respon inflamasi akut, ketika proses tersebut dapat mengembalikan keadaan homeostasis dan patogen atau stimulus telah dihilangkan maka inflamasi akan berhenti. Namun, hal ini tidak terjadi pada inflamasi kronis misalnya ketika patogen tidak dapat dieradikasi sepenuhnya oleh sistem imun bawaan dan adaptif. Banyak bukti menunjukkan bahwa inflamasi kronis terlibat dalam perkembangan kanker yang mana merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Sitokin dan sel inflamasi diketahui terlibat dalam tumorigenesis dan perkembangan sebagian besar kanker. Hal tersebut mengarah pada penggunaan obat antiinflamasi nonsteroid (OAINS) sebagai salah satu pendekatan dalam mencegah atau mengobati kanker. Namun OAINS memiliki efek samping penggunaan seperti perdarahan, gangguan ginjal, dan tukak lambung. Oleh karena itu diperlukan alternatif pengobatan lain seperti pengobatan tradisional atau herbal, salah satunya yaitu jamu.

Penggunaan obat tradisional mengalami peningkatan selama beberapa tahun terakhir di wilayah Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Jamu memang telah digunakan secara luas oleh masyarakat Indonesia sejak berabad-abad lalu. Di masa kini, 60% penduduk Indonesia di atas usia 15 tahun diperkirakan pernah minum jamu dan 90% di antaranya merasakan manfaat setelah minum jamu. Penggunaan jamu semakin meningkat dari tahun ke tahun yang juga didukung oleh kemudahan berbelanja daring di zaman modern sekarang ini. Meskipun demikian, hingga saat ini belum terdapat banyak penelitian mengenai pembuktian

khasiat jamu secara ilmiah. Oleh karena itu, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi ekstrak jamu merek X, Y, dan Z yang berasal dari 50 jamu terlaris dari 2 *marketplace* yang memiliki klaim khasiat berhubungan dengan antiinflamasi.

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode stabilisasi membran sel darah merah yang diinduksi hipotonisitas dan panas serta metode inhibisi denaturasi protein yang diinduksi panas. Membran sel darah merah dalam penelitian ini dianalogikan sebagai membran lisosom yang stabilisasinya berperan penting dalam membatasi respon inflamasi. Di sisi lain, denaturasi protein merupakan suatu perubahan struktur sekunder, tersier, dan kuartener molekul protein tanpa disertai pemecahan ikatan kovalen. Denaturasi protein dapat terjadi antara lain akibat suhu, tekanan, pH, dan agen pereduksi. Denaturasi protein berkontribusi terhadap terjadinya proses inflamasi yang mampu memicu pelepasan mediator inflamasi.

Kedua metode yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan natrium diklofenak sebagai kontrol positif. Pengujian stabilisasi membran sel darah merah diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 576 nm dan pengujian denaturasi protein diukur menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 660 nm. Berdasarkan hasil pengujian, maka dapat dihitung nilai IC_{50} . Pada metode stabilisasi membran sel darah merah, didapatkan nilai IC_{50} ekstrak jamu X, Y, dan Z berturut-turut sebesar $786,540 \pm 27,152$; $840,907 \pm 30,425$; dan $964,277 \pm 32,258 \mu\text{g/mL}$ dengan natrium diklofenak sebagai kontrol positif memiliki IC_{50} sebesar $105,169 \pm 3,022 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan analisis LSD diketahui bahwa ekstrak jamu memiliki aktivitas antiinflamasi dengan urutan $X = Y > Z$ terhadap stabilisasi membran sel darah merah ($p < 0,01$). Pada inhibisi denaturasi protein, didapatkan nilai IC_{50} ekstrak jamu X, Y, dan Z berturut-turut sebesar $76,921 \pm 1,034$; $89,349 \pm 1,207$; dan $153,899 \pm 2,682 \mu\text{g/mL}$ dengan natrium diklofenak sebagai kontrol positif memiliki IC_{50} sebesar $4,749 \pm 0,089 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan analisis LSD diketahui bahwa ekstrak jamu memiliki aktivitas antiinflamasi dengan urutan $X > Y > Z$ terhadap inhibisi denaturasi protein ($p < 0,01$).

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah Swt. yang telah melimpahkan rahmat, karunia, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antiinflamasi *In Vitro* Ekstrak Jamu Merek X, Y, dan Z”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan berkat campur tangan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Allah Swt., yang telah memberikan kemudahan, kelancaran, kekuatan, dan rida-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini untuk mencapai gelar sarjana
2. Bapak Dr. apt. Nuri, S.Si., M.Si selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember
3. Ibu apt. Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah meluangkan waktu untuk membimbing selama masa perkuliahan penulis
4. Ibu apt. Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc dan Bapak apt. Ari Satia Nugraha, S.F.,GdipSc., Msc-res., PhD selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dosen Pembimbing Anggota yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, masukan, dan semangat kepada penulis selama penyusunan skripsi
5. Ibu Dr. apt. Siti Muslichah, S.Si., M.Sc dan Ibu Dr. apt. Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si selaku Dosen Penguji Utama dan Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi
6. Seluruh Bapak dan Ibu dosen yang telah memberi bekal ilmu pengetahuan selama masa perkuliahan

7. Ibu Widi, Mbak Parka, Mbak Indri, Mbak Dian, Bu Wayan, dan Mbak Hani selaku laboran yang telah berkenan membantu penulis selama penelitian berlangsung
8. Ayah Tumiran, Ibu Puji, Kakak Putri, Kakak Pras, Kakak Yayuk, dan Adik El atas seluruh cinta, kasih sayang, dukungan, nasihat, motivasi, pengorbanan, dan doa yang tiada hentinya mengiringi setiap langkah penulis
9. Diri saya sendiri yang telah bertahan hingga saat ini dan seterusnya
10. Rekan penelitian proyek jamu (Putri, Ika, Bagus) dan teman-teman yang melakukan penelitian di Laboratorium Biologi Farmasi atas segala bantuan, ilmu, keceriaan, dan canda tawa
11. “Besteh Sambat” Putri, Zhai, Faizah yang telah menemani penulis serta berbagi suka dan duka dari awal perkuliahan hingga saat ini dan seterusnya
12. Yopa, Marzika, Clarista, dan Berlian yang selalu kebersamai penulis dari awal pertemuan hingga saat ini dan seterusnya
13. Teman-teman Pharolit 2019 atas perjalanan perkuliahan yang berkesan
14. Kakak tingkat Intan, Ahya, Shinta, dan Rafika yang telah membantu dan memberikan arahan kepada penulis dalam melaksanakan penelitian
15. Semua pihak terlibat yang tidak bisa disebutkan satu per satu atas segala bantuan dan kerja samanya

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat membawa kemanfaatan bagi pembacanya.

Jember, 13 Juli 2023

Penulis

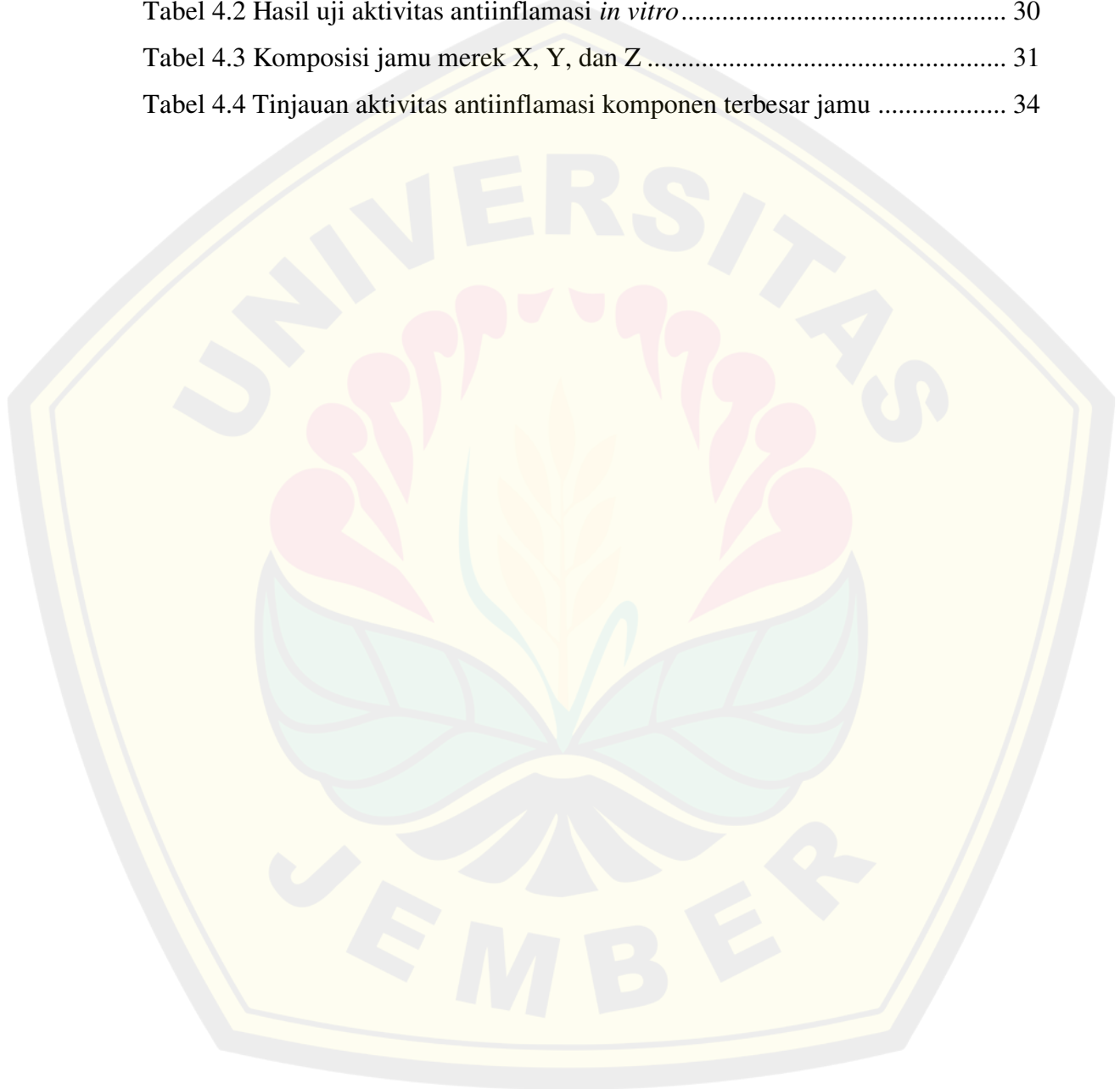
DAFTAR ISI

PERSEMBAHAN	iii
MOTO	iv
PERNYATAAN	v
PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Inflamasi	5
2.1.1 Definisi dan Tanda Inflamasi	5
2.1.2 Jenis Inflamasi	6
2.1.3 Mekanisme Inflamasi dan Uji Aktivitas Antiinflamasi <i>In Vitro</i>	7
2.2 Obat Antiinflamasi.....	11
2.3 Jamu	13
BAB 3 METODE PENELITIAN	16
3.1 Jenis Penelitian.....	16
3.2 Definisi Operasional	16
3.3 Variabel Penelitian.....	16
3.3.1 Variabel Bebas	16
3.3.2 Variabel Terikat.....	16
3.3.3 Variabel Terkendali.....	16

3.4	Waktu dan Tempat Penelitian.....	17
3.5	Alat dan Bahan.....	17
3.5.1	Alat.....	17
3.5.2	Bahan.....	17
3.6	Etika Penelitian.....	17
3.7	Pemeliharaan Hewan Coba.....	19
3.8	Rancangan Penelitian.....	19
3.9	Prosedur Penelitian.....	19
3.9.1	Seleksi Jamu.....	19
3.9.2	Ekstraksi Jamu.....	21
3.9.3	Uji Aktivitas Antiinflamasi Metode Stabilisasi Membran Sel Darah Merah.....	21
3.9.4	Uji Aktivitas Antiinflamasi Metode Inhibisi Denaturasi Protein.....	24
3.10	Analisis Hasil.....	24
3.11	Skema Kerja Penelitian.....	27
BAB 4	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
4.1	Ekstraksi Jamu Merek X, Y, dan Z.....	28
4.2	Uji Aktivitas Antiinflamasi <i>In Vitro</i>	29
BAB 5	PENUTUP.....	38
5.1	Kesimpulan.....	38
5.2	Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA.....		39
LAMPIRAN.....		46

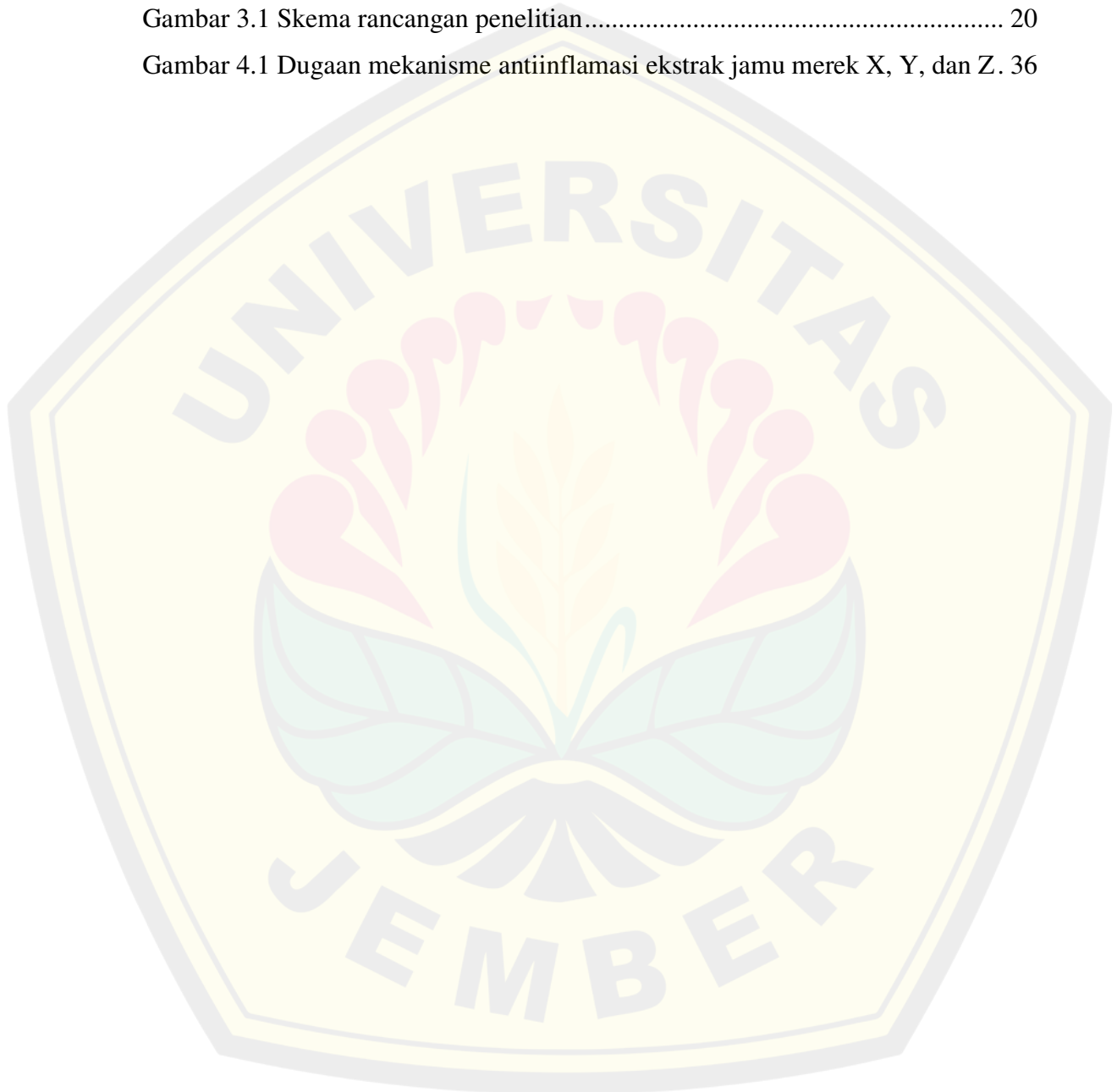
DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Daftar jamu merek X, Y, dan Z	18
Tabel 4.1 Rendemen ekstrak jamu X, Y, dan Z	29
Tabel 4.2 Hasil uji aktivitas antiinflamasi <i>in vitro</i>	30
Tabel 4.3 Komposisi jamu merek X, Y, dan Z	31
Tabel 4.4 Tinjauan aktivitas antiinflamasi komponen terbesar jamu	34



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Mekanisme inflamasi 9
Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian..... 20
Gambar 4.1 Dugaan mekanisme antiinflamasi ekstrak jamu merek X, Y, dan Z. 36



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Inflamasi merupakan respon tubuh yang berfungsi sebagai mekanisme pertahanan cepat untuk melawan patogen potensial, membatasi kerusakan jaringan lebih lanjut, dan merangsang mekanisme perbaikan jaringan. Inflamasi dapat ditandai oleh beberapa karakteristik yaitu nyeri (*dolor*), panas (*calor*), kemerahan (*rubor*), bengkak (*tumor*), dan gangguan fungsi (*functio laesa*). Respon inflamasi dapat dipicu oleh patogen atau adanya trauma terhadap jaringan yang disebabkan oleh kerusakan mekanis, kimia, maupun suhu yang ekstrem. Pada respon inflamasi akut, ketika proses tersebut dapat mengembalikan keadaan homeostasis dan patogen atau stimulus telah dihilangkan maka inflamasi akan berhenti. Namun, hal ini tidak terjadi pada inflamasi kronis dapat terjadi misalnya ketika patogen tidak dapat dieradikasi sepenuhnya oleh sistem imun bawaan dan adaptif (Munn, 2017) .

Banyak bukti menunjukkan bahwa inflamasi kronis terlibat dalam perkembangan kanker, diperkirakan 25% kanker berkaitan dengan terjadinya inflamasi kronis yang disebabkan oleh infeksi atau agen fisikokimia (Korniluk dkk., 2017). Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Berdasarkan data GLOBOCAN yang dirilis *International Agency for Research on Cancer (IARC)*, pada tahun 2020 terdapat 19,3 juta kasus baru kanker dan 9,96 juta kematian akibat kanker di seluruh dunia. Kasus baru dan kematian akibat kanker mengalami peningkatan setiap tahunnya, diperkirakan pada tahun 2040 akan terdapat 30,2 juta kasus baru kanker dan 16,3 juta kematian akibat kanker (IARC, 2020). Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018 menunjukkan bahwa prevalensi kanker di Indonesia juga mengalami peningkatan dibanding tahun 2013 (Kementerian Kesehatan RI, 2018).

Sitokin dan sel inflamasi diketahui terlibat dalam tumorigenesis dan perkembangan sebagian besar kanker, termasuk perut, usus besar, kulit, hati,

payudara, dan paru-paru. Hal tersebut mengarah pada penggunaan obat antiinflamasi nonsteroid (OAINS) sebagai salah satu pendekatan dalam mencegah atau mengobati kanker (Munn, 2017). Namun beberapa OAINS memiliki efek samping penggunaan jangka panjang seperti perdarahan, gangguan ginjal (Kuropakornpong dkk., 2020), dan tukak lambung (Barragán-Zarate dkk., 2020). Oleh karena itu diperlukan alternatif pengobatan lain seperti pengobatan tradisional atau herbal yang aman, terjangkau, dan nyaman digunakan oleh pasien (Agnihotri dkk., 2010).

Penggunaan obat tradisional mengalami peningkatan selama beberapa tahun terakhir di wilayah Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Sejumlah besar populasi masyarakat diperkirakan menggunakan pelayanan kesehatan tradisional (Pengpid dan Peltzer, 2018). Data Riskesdas tahun 2018 menunjukkan bahwa dalam 1 tahun terakhir sebanyak 31,4% rumah tangga Indonesia memanfaatkan pelayanan kesehatan tradisional (yankestrad) dan 48,0% di antaranya berupa ramuan jadi, termasuk di dalamnya jamu. Jamu dimanfaatkan baik oleh masyarakat perkotaan maupun perdesaan dengan proporsi yang seimbang utamanya untuk menjaga kesehatan dan sebagai pengobatan (Kementerian Kesehatan RI, 2018).

Jamu memang telah digunakan secara luas oleh masyarakat Indonesia sejak berabad-abad lalu. Bukti historis menyatakan istilah jamu (Jampi Oesada) dapat ditelusuri dalam peninggalan tulisan zaman dahulu, termasuk naskah Ghatotkacasraya, Serat Centhini, dan Serat Kawruh Bab Jampi-Jampi Jawi. Di masa kini, 60% penduduk Indonesia di atas usia 15 tahun diperkirakan pernah minum jamu dan 90% di antaranya merasakan manfaat setelah minum jamu. Penggunaan jamu semakin meningkat dari tahun ke tahun karena dianggap berkhasiat, relatif lebih murah, dan adanya tren kembali ke alam (*back to nature*). Jamu digunakan secara empiris dalam upaya promotif, preventif, dan bahkan selanjutnya berkembang ke arah kuratif dan paliatif (Aditama, 2014).

Jamu merupakan budaya dan kekayaan alam yang tidak dapat dilepaskan dari kehidupan masyarakat Indonesia. *World Health Organization* (WHO)

telah mendorong pemanfaatan pengobatan tradisional-komplementer dalam pelayanan kesehatan. Untuk dapat mewujudkan hal tersebut, maka jamu yang digunakan dalam pengobatan harus terbukti secara ilmiah, aman, dan kualitasnya terjamin (WHO, 2022). Hal tersebut menjadi tantangan dikarenakan hingga saat ini umumnya jamu belum mempunyai bukti ilmiah yang kokoh terkait dengan khasiatnya. Oleh karena itu, pemerintah Indonesia juga melaksanakan program saintifikasi jamu yang merupakan pembuktian ilmiah jamu melalui penelitian berbasis pelayanan (Siswanto, 2012).

Berdasarkan pemaparan di atas, alternatif agen antiinflamasi yang minim efek samping terutama jangka panjang sangat dibutuhkan. Di sisi lain, budaya minum jamu sangat melekat dalam kehidupan masyarakat Indonesia yang dapat dilihat dari banyaknya agen jamu dan tempat minum jamu. Selain itu, kemudahan berbelanja secara daring juga mendukung dalam meningkatnya konsumsi jamu. Meskipun demikian, hingga saat ini belum terdapat banyak penelitian mengenai pembuktian khasiat jamu secara ilmiah. Oleh karena itu, untuk mendukung pengembangan dan saintifikasi jamu, maka peneliti melakukan uji aktivitas antiinflamasi ekstrak jamu merek X, Y, dan Z yang berasal dari 50 jamu terlaris dari 2 *marketplace* menggunakan metode stabilisasi membran sel darah merah dan inhibisi denaturasi protein.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh ekstrak jamu X, Y, dan Z terhadap stabilisasi membran sel darah merah?
2. Bagaimana pengaruh ekstrak jamu X, Y, dan Z terhadap inhibisi denaturasi protein?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh ekstrak jamu X, Y, dan Z terhadap stabilisasi membran sel darah merah
2. Mengetahui pengaruh ekstrak jamu X, Y, dan Z terhadap inhibisi denaturasi protein

1.4 Manfaat Penelitian

Dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. Mendorong pemanfaatan serta perkembangan penelitian aktivitas antiinflamasi obat tradisional
2. Memberikan kontribusi dalam program saintifikasi jamu sehingga dapat mempercepat perkembangan pengobatan tradisional-komplementer

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Inflamasi

2.1.1 Definisi dan Tanda Inflamasi

Inflamasi merupakan respon protektif tubuh terhadap adanya infeksi dan kerusakan jaringan yang membawa sel dan molekul ke tempat terjadinya cedera untuk untuk menghilangkan penyebab (misalnya mikroba atau racun) dan konsekuensi dari cedera tersebut (misalnya sel dan jaringan nekrotik). Mediator pertahanan yang terlibat dalam proses inflamasi termasuk leukosit, antibodi, dan protein komplemen yang dalam kondisi normal bersirkulasi di dalam darah (Kumar dkk., 2020). Respon inflamasi dapat dipicu oleh patogen atau adanya trauma terhadap jaringan yang disebabkan oleh kerusakan mekanis, kimia, maupun suhu yang ekstrem (Munn, 2017). Setelah stimulus inflamasi dan cedera berhasil dihilangkan, respon inflamasi akan merangsang mekanisme perbaikan yang akan mengembalikan integritas jaringan (Kumar dkk., 2020).

Inflamasi dapat ditandai oleh beberapa karakteristik yaitu (Corwin, 1999):

a. Kemerahan (*rubor*)

Kemerahan lokal terjadi ketika arteriol mengalami dilatasi dan sirkulasi menuju tempat terjadinya cedera meningkat.

b. Panas (*calor*)

Rasa panas yang terjadi di tempat cedera diakibatkan oleh adanya vasodilatasi lokal, kebocoran cairan ke dalam ruang interstisial, dan peningkatan aliran darah ke tempat cedera.

c. Nyeri (*dolor*)

Nyeri terjadi ketika reseptor nyeri mengalami stimulasi oleh jaringan yang mengalami kerusakan, perubahan pH lokal, dan senyawa kimia yang diekskresikan selama terjadinya proses inflamasi.

d. Bengkak (*tumor*)

Bengkak diakibatkan oleh terjadinya vasodilatasi lokal, kebocoran cairan ke ruang interstisial, dan penyumbatan aliran limfatik untuk membantu membatasi inflamasi.

e. Gangguan fungsi (*functio laesa*)

Tanda lain yang seringkali berhubungan dengan inflamasi yaitu gangguan fungsi yang umumnya terjadi akibat adanya bengkak dan nyeri di tempat terjadinya cedera. Gangguan fungsi memungkinkan adanya keterbatasan gerak sehingga dapat meminimalisir kerusakan atau cedera lebih lanjut (Munn, 2017).

2.1.2 Jenis Inflamasi

Inflamasi dapat dibedakan menjadi inflamasi akut dan inflamasi kronis. Inflamasi akut didefinisikan sebagai serangkaian respon jaringan yang terjadi dalam beberapa jam awal atau beberapa hari setelah terjadinya kerusakan atau cedera (Serhan dkk., 2010). Inflamasi akut dikarakterisasi oleh pengeluaran cairan dan protein plasma (edema) serta migrasi leukosit, utamanya neutrofil. Jika stimulus penyebabnya dapat dieliminasi, reaksi akan mereda dan sisa cedera akan mengalami perbaikan. Sebaliknya jika respon awal tidak berhasil mengeliminasi stimulus, maka reaksi akan berkembang menjadi jenis inflamasi berkepanjangan yang disebut inflamasi kronis.

Inflamasi kronis merupakan respon tubuh terhadap adanya stimulus atau agen yang sulit dieradikasi termasuk bakteri, patogen lain, maupun antigen (Kumar dkk., 2020). Inflamasi kronis didefinisikan secara morfologis dengan adanya limfosit, makrofag, dan sel plasma dalam jaringan. Respon inflamasi kronis dapat terjadi dalam durasi yang panjang (bulan hingga tahun), diduga disebabkan oleh keterlibatan respon imun bawaan dan adaptif secara persisten (Serhan dkk., 2010).

2.1.3 Mekanisme Inflamasi dan Uji Aktivitas Antiinflamasi *In Vitro*

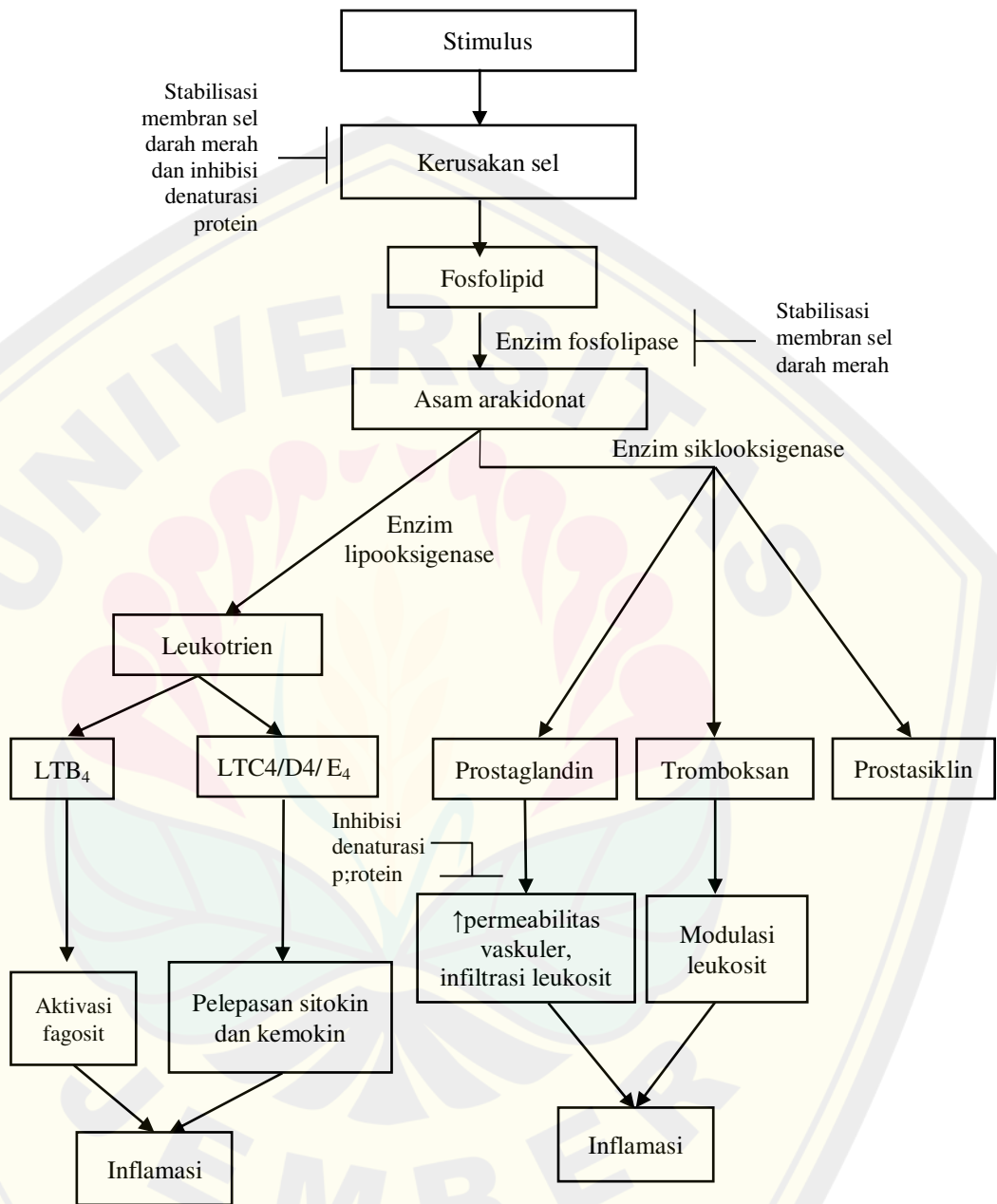
Mekanisme inflamasi melibatkan aktivitas seluler dan vaskuler dengan sekresi humoral spesifik (Abdulkhaleq dkk., 2018). Pengenalan terhadap stimulus merupakan langkah awal dalam inisiasi proses inflamasi. Sel yang memicu inflamasi dilengkapi dengan reseptor yang dapat mengenali produk mikroba atau senyawa yang dilepaskan oleh sel cedera. Keterlibatan dengan reseptor tersebut mengarah pada produksi mediator inflamasi. Ketika terjadi cedera jaringan ataupun infeksi, leukosit dan protein plasma secara cepat bermigrasi dari sirkulasi ke ekstravaskuler di tempat stimulus berada. Proses tersebut membutuhkan perubahan yang terkoordinasi dalam pembuluh darah dan sekresi mediator. Produksi atau aktivasi mediator inflamasi akan menginduksi terjadinya reaksi inflamasi lebih lanjut. Beberapa mediator dapat menginduksi pelepasan mediator inflamasi yang lain (Kumar dkk., 2020).

Eikosanoid terlibat dalam sejumlah jalur metabolik yang memiliki peran beragam dalam inflamasi dan pensinyalan seluler. Jalur ini terpusat pada reaksi yang melibatkan metabolisme prekursornya, yaitu asam arakidonat (Serhan dkk., 2010). Dalam berbagai jenis sel, stimulus inflamasi menginduksi enzim fosfolipase A₂ untuk membebaskan asam arakidonat dari fosfolipid membran. Asam arakidonat selanjutnya diubah oleh enzim lipooksigenase menjadi leukotrien. Asam arakidonat juga dimetabolisme untuk membentuk eikosanoid oleh enzim siklooksigenase (COX-1 dan COX-2) yang menghasilkan prostaglandin, tromboksan, dan prostasiklin (Katzung dan Vanderah, 2020). Senyawa kimia tersebut memiliki aksi yang beragam pada pembuluh darah dan leukosit. Leukotrien terlibat dalam rekrutmen leukosit dan reaksi otot polos serta vaskuler. Sintesis leukotrien melibatkan beberapa langkah dengan pertama-tama membentuk leukotrien A₄ (LTA₄), yang selanjutnya akan menghasilkan LTB₄ atau LTC₄. LTB₄ yang diproduksi oleh neutrofil dan beberapa makrofag merupakan agen kemotaktik poten dan aktivator neutrofil. Senyawa ini menyebabkan agregasi dan adhesi sel ke endotel

venula, pembentukan ROS, dan pelepasan enzim lisosom yang mengarah pada terjadinya inflamasi (Kumar dkk., 2020). LTC₄ dan metabolitnya (LTD₄ dan LTE₄) sebagian besar diproduksi dalam sel mast mampu memicu pelepasan sitokin dan kemokin inflamasi (Katzung dan Vanderah, 2020). Prostaglandin dapat meningkatkan permeabilitas vaskuler dan infiltrasi leukosit. Tromboksan dapat meningkatkan interaksi platelet-leukosit melalui aktivitasnya sebagai agonis platelet. Keduanya mengarah pada terjadinya proses inflamasi (Katzung dan Vanderah, 2020). Metode uji aktivitas antiinflamasi *in vitro* yang digunakan dalam penelitian ini berkaitan dengan mekanisme terjadinya inflamasi, ditunjukkan pada Gambar 2.1.

Lisosom merupakan organel intraseluler yang berperan khusus dalam degradasi dan daur ulang bahan intraseluler dan ekstraseluler yang dihantarkan melalui endositosis, autofagi, dan fagositosis. Fungsi degradasi lisosom dilakukan oleh sekitar 60 hidrolase asam dalam lumen lisosom yang mampu mencerna makromolekul seluler menjadi struktur dasarnya. Enzim hidrolase dilepaskan ke dalam ekstraseluler melalui eksositosis. Beberapa enzim hidrolase, khususnya protease cathepsin, berperan dalam proses resorpsi tulang, invasi, dan angiogenesis. Lisosom juga berperan dalam jalur pensinyalan yang mengatur adaptasi metabolik, homeostasis ion, dan kelangsungan hidup sel. Hilangnya integritas membran lisosom menyebabkan pelepasan enzim yang dapat mengaktifasi inflamasi yang mana merupakan jalur pensinyalan sitosol dari sistem imun bawaan yang muncul sebagai respon terhadap beberapa kondisi cedera. Aktivasi inflamasi pada akhirnya dapat memicu sekresi mediator inflamasi termasuk prostaglandin (Stahl-Meyer dkk., 2021). Kerusakan membran lisosom juga dapat memicu pelepasan enzim fosfolipase A₂ yang membebaskan asam arakidonat dari fosfolipid membran untuk memproduksi berbagai mediator inflamasi (Umaphy dkk., 2010). Oleh sebab itu stabilisasi membran lisosom berperan penting dalam menjaga kadar normal enzim lisosom dalam jaringan dan cairan

tubuh yang pada akhirnya dapat menghambat respon inflamasi (Meeran dkk., 2015).



Gambar 2.1 Mekanisme inflamasi

Metode uji antiinflamasi melalui stabilisasi membran sel darah merah yang digunakan dalam penelitian ini menganalogikan sel darah merah sebagai membran lisosom yang stabilisasinya berperan penting dalam membatasi respon inflamasi (Leelaprakash dan Dass, 2011). Stabilisasi membran merupakan proses menjaga integritas membran sel darah merah dan lisosom terhadap hemolisis yang diinduksi hipotonisitas atau panas. Membran sel darah merah dan membran lisosom secara morfologis sangat mirip. Oleh karena itu, membran sel darah merah telah digunakan untuk mempelajari efek obat pada lisosom karena hasil yang diperoleh dari pengujian stabilisasi membran sel darah merah dapat diekstrapolasi ke stabilitas lisosom (Oyeleke dkk., 2018).

Pada mekanisme yang lain, proses inflamasi dapat disebabkan oleh adanya denaturasi protein. Denaturasi protein merupakan salah satu penyebab penyakit inflamasi dan arthritis. Produksi autoantigen pada beberapa penyakit arthritis mungkin disebabkan oleh terjadinya denaturasi protein *in vivo* (Dey dkk., 2011). Denaturasi protein dapat menyebabkan peningkatan permeabilitas pembuluh darah yang berkontribusi terhadap terjadinya respon inflamasi (Opie, 1962). Oleh karena itu, agen yang dapat menghambat denaturasi protein mungkin dapat menjadi kandidat pengembangan obat antiinflamasi. Berkaitan dengan hal tersebut, pengujian inhibisi denaturasi protein *in vitro* dapat dilakukan sebagai skrining awal untuk mengetahui adanya aktivitas antiinflamasi sebelum dilakukan uji *in vivo* (Banerjee dkk., 2014).

Denaturasi protein merupakan suatu perubahan struktur sekunder, tersier, dan kuaterner molekul protein tanpa disertai pemecahan ikatan kovalen. Denaturasi protein dapat terjadi antara lain akibat suhu, tekanan, pH, dan agen pereduksi (Erianti dkk., 2015). Adanya panas akan meningkatkan energi kinetik yang menyebabkan molekul penyusun protein bergerak sangat cepat sehingga dapat mengacaukan ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik nonpolar. Selain itu, pemanasan akan mengakibatkan perubahan kemampuan mengikat air pada protein. Energi

panas dapat memutus interaksi nonkovalen yang ada pada struktur alami protein, namun tidak memutus ikatan kovalennya yang berupa ikatan peptida. Aktivitas inhibisi denaturasi protein diketahui melalui pengukuran serapan secara spektrofotometri UV-Vis. Senyawa yang mampu menghambat denaturasi protein lebih dari 20% dianggap memiliki aktivitas antiinflamasi dan dapat dijadikan nilai acuan dalam pengembangan obat (Farida dkk., 2018).

2.2 Obat Antiinflamasi

Berdasarkan mekanisme kerjanya, obat antiinflamasi dapat dikelompokkan menjadi obat antiinflamasi nonsteroid (OAINS) dan obat antiinflamasi steroid. OAINS merupakan golongan obat asam lemah yang efek farmakologinya dihasilkan dari penghambatan siklooksigenase (COX), enzim yang mengkatalis tahap pertama dalam sintesis prostaglandin dari asam arakidonat dan prekursor asam lemak lain. Obat-obatan golongan ini memiliki khasiat sebagai antiinflamasi, analgesik, dan antipiretik dalam derajat yang berbeda serta dapat menghambat agregasi platelet (kecuali inhibitor COX-2 selektif). Penggunaan OAINS jangka panjang berkaitan dengan sejumlah efek samping, termasuk perdarahan gastrointestinal, tukak lambung, disfungsi hati serta ginjal (Stevens, 2022).

COX memiliki dua isoform mayor, yaitu COX-1 dan COX-2. COX-1 merupakan enzim konstitutif yang dapat ditemukan dalam kadar relatif konstan di beberapa jaringan. Enzim ini berperan dalam sintesis prostaglandin dan memiliki efek sitoprotektif pada gastrointestinal. COX-1 juga mengkatalis pembentukan tromboksan A₂ dalam platelet, menyebabkan agregasi platelet dan hemostasis. Sebaliknya COX-2 merupakan enzim yang dapat diinduksi, dimana kadar normalnya dalam sebagian besar jaringan sangat rendah. Namun selama proses inflamasi akan terjadi peningkatan kadar COX-2 secara cepat oleh senyawa proinflamasi (misalnya sitokin, endotoksin, dan promotor tumor) (Stevens, 2022).

Penemuan isozim COX mengarah pada pengembangan inhibitor COX-2 selektif yang merupakan OAINS yang efektif dengan perdarahan dan ulkus gastrointestinal lebih minimal dibanding inhibitor nonselektif. Di sisi lain, inhibitor COX-2 meningkatkan kejadian edema, hipertensi, dan kemungkinan infark miokard. Sebagian besar NSAID yang tersedia saat ini merupakan inhibitor nonselektif dari COX-1 dan COX-2 yang bersifat mengiritasi lambung serta berkaitan dengan perdarahan dan ulkus gastrointestinal, salah satunya yaitu natrium diklofenak yang merupakan turunan asam fenilasetat (Katzung dan Vanderah, 2020).

Golongan obat antiinflamasi yang lain yang banyak digunakan yaitu golongan steroid. Korteks adrenal melepaskan sejumlah steroid ke dalam sirkulasi. Berdasarkan aktivitasnya, hormon steroid dapat diklasifikasikan menjadi glukokortikoid dan mineralokortikoid. Glukokortikoid memiliki efek terhadap metabolisme perantara dan fungsi imun, sedangkan mineralokortikoid memiliki aktivitas retensi garam. Glukokortikoid dapat mengurangi manifestasi inflamasi akibat efeknya terhadap konsentrasi, distribusi, dan fungsi leukosit perifer serta efek penekanan sitokin, kemokin, dan mediator inflamasi. Glukokortikoid juga memengaruhi respon inflamasi melalui penghambatan fosfolipase A2 sehingga dapat mengurangi sintesis asam arakidonat yang merupakan prekursor prostaglandin. Hal tersebut mengarah pada pengembangan steroid sintetis sebagai agen antiinflamasi. Contoh obat golongan steroid antara lain yaitu hidrokortison, kortison, prednison, triamsinolon, betamethason, dan lain-lain (Katzung dan Vanderah, 2020).

Meskipun demikian, penggunaan glukokortikoid jangka panjang dapat menyebabkan *Cushing syndrome*, katarak, glukoma, dan keterbelakangan pertumbuhan. Perubahan metabolik dan fisiologis lain dapat terjadi, termasuk hiperglikemia, intoleransi glukosa, dan hipertensi. Glukokortikoid juga meningkatkan katabolisme tulang dapat memiliki efek antagonis vitamin D pada penyerapan kalsium, sehingga berkontribusi dalam perkembangan osteoporosis. Golongan obat ini memiliki beberapa efek pada sistem saraf

pusat sehingga dapat menyebabkan euphoria dan psikosis. Penggunaan dosis tinggi menstimulasi asam lambung dan produksi pepsin sehingga dapat memperparah ulkus lambung (Stevens, 2022). Oleh karena itu, penggunaannya terutama dalam jangka panjang harus diwaspadai.

2.3 Jamu

Jamu telah menjadi bagian dari budaya dan kekayaan alam Indonesia. Hingga saat ini pengobatan penyakit menggunakan obat tradisional atau jamu terus dilestarikan oleh masyarakat modern (Mulyani dkk., 2016). Menurut Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Nomor HK.00.05.4.2411, Obat Bahan Alam Indonesia dikelompokkan menjadi jamu, obat herbal terstandar, dan fitofarmaka. Pengelompokan tersebut dilakukan berdasarkan cara pembuatan serta jenis klaim penggunaan dan tingkat pembuktian khasiat. Jamu merupakan obat tradisional Indonesia, yaitu bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut, yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman. Jamu harus memenuhi kriteria aman, bermutu, dan klaim khasiatnya dibuktikan berdasarkan data empiris. Obat herbal terstandar adalah sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinik dan bahan bakunya telah distandardisasi. Obat herbal terstandar harus memenuhi kriteria aman, bermutu, klaim khasiat dibuktikan secara ilmiah atau praklinik, dan telah dilakukan standardisasi terhadap bahan baku yang digunakan dalam produk jadi. Fitofarmaka adalah sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinik dan uji klinik, bahan baku dan produk jadinya telah distandardisasi. Fitofarmaka harus memenuhi kriteria aman, bermutu, klaim khasiat dibuktikan secara ilmiah atau praklinik, dan telah dilakukan standardisasi terhadap bahan baku yang digunakan dalam produk jadi. Dari ketiga Obat Bahan Alam Indonesia tersebut, hanya fitofarmaka yang

jenis klaim penggunaannya harus sesuai dengan tingkat pembuktian medium dan tinggi.

Istilah “*djamoe*” dikenal sejak abad 15-16 M, diketahui dari primbon yang ditemukan di Kartasuro. Uraian jamu secara lengkap ditemukan dalam serat centini yang ditulis pada tahun 1810-1823 oleh Kanjeng Gusti Adipati Anom Mangkunegoro III. *Djamoe* merupakan singkatan dari *djampi oesodo*, *djampi* berarti doa atau obat dan *oesodo* atau husada berarti kesehatan. Dengan kata lain *djamoe* dapat diartikan sebagai obat atau doa untuk meningkatkan kesehatan. Sejak awal abad ke-17, para dokter berkebangsaan asing seperti Belanda, Jerman, maupun Inggris tertarik mempelajari jamu hingga menuliskannya ke dalam buku seperti “*Practical Observations on a Number of Javanese Medications*” yang ditulis pada tahun 1829 oleh dr. Carl Waitz. Isi buku tersebut antara lain menjelaskan bahwa obat yang umum digunakan di Eropa dapat digantikan oleh tanaman herbal atau jamu Indonesia. Pada tahun 1850, Geerlof Wassink membuat kebun tanaman obat di *The Weltevreden Military Hospital* yang sekarang menjadi rumah sakit Gatot Subroto dan menginstruksikan dokter agar menggunakannya dalam pengobatan. Hasilnya kemudian dipublikasikan dalam *Medical Journal of the Dutch East Indies* (Purwaningsih, 2013).

Di masa kini, pengobatan tradisional diharapkan dapat dikembangkan bersama pengobatan modern supaya dapat saling mendukung sehingga dapat memberikan pelayanan kesehatan yang optimal untuk masyarakat (Mulyani dkk., 2016). Untuk mewujudkan hal tersebut, maka penggunaan jamu harus memiliki bukti ilmiah terkait dengan manfaat dan keamanannya. Oleh karena itu pemerintah membuat program terobosan yang disebut saintifikasi jamu yang dituangkan dalam Permenkes Nomor 003/MENKES/PER/I/2010 tentang Saintifikasi Jamu dalam Penelitian Berbasis Pelayanan Kesehatan. Saintifikasi jamu merupakan pembuktian ilmiah jamu melalui penelitian berbasis pelayanan kesehatan. Saintifikasi jamu dilakukan dengan tujuan sebagai berikut:

- a. Memberikan landasan ilmiah (*evidence based*) penggunaan jamu secara empiris melalui penelitian berbasis pelayanan kesehatan.
- b. Mendorong terbentuknya jejaring dokter atau dokter gigi dan tenaga kesehatan lainnya sebagai peneliti dalam rangka upaya preventif, promotif, rehabilitatif, dan paliatif melalui penggunaan jamu.
- c. Meningkatkan kegiatan penelitian kualitatif terhadap pasien dengan penggunaan jamu.
- d. Meningkatkan penyediaan jamu yang aman, memiliki khasiat nyata yang teruji secara ilmiah, dan dimanfaatkan secara luas baik untuk pengobatan sendiri maupun dalam fasilitas pelayanan kesehatan.

Jamu senantiasa digunakan secara empiris dalam upaya promotif, preventif, dan bahkan selanjutnya berkembang ke arah kuratif dan paliatif sehingga diperlukan jamu yang aman, berkhasiat, dan bermutu. Oleh karena itu penelitian dan pengembangan jamu sangat penting dalam mendukung program saintifikasi jamu serta meningkatkan kesejahteraan masyarakat dan daya saing bangsa sesuai dengan *roadmap* pengembangan jamu (RPJ) 2011-2025 (Aditama, 2014).

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian uji aktivitas antiinflamasi *in vitro* ekstrak jamu X, Y, dan Z merupakan penelitian eksperimental laboratoris.

3.2 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini yaitu jamu yang digunakan. Jamu yang digunakan yaitu jamu yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi penelitian, diawali dengan pencarian di *marketplace* melalui fitur diurutkan dari produk terlaris, lalu dilakukan reduksi data dengan pengecekan nomor Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) dan khasiat yang berhubungan dengan antiinflamasi dengan bantuan *website* Knapsack atau dari kemasan jamu.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah variasi dosis ekstrak jamu.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah stabilitas membran sel darah merah kelinci dan inhibisi denaturasi protein.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol yang digunakan dalam penelitian ini adalah cara ekstraksi, usia kelinci, jenis kelamin kelinci, pemeliharaan kelinci, prosedur pengujian, serta waktu dan lama perlakuan.

3.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2022 - Juni 2023 di Laboratorium Fitokimia Bagian Biologi, Laboratorium Farmakologi Bagian Farmasi Klinik dan Komunitas, serta Laboratorium Kimia Analisis Bagian Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Penelitian ini dilakukan menggunakan alat-alat gelas, neraca analitik, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu A120658), *freeze dryer* (Zirbus VaCo 5-II-D), ELISA reader (BioTek ELx800), pH meter (WalkLAB HP9010), pemanas air, *ultrasonic degasser*, alat sentrifugasi, mikropipet, dan *waterbath*.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamu merek X, Y, dan Z yang dijelaskan dalam Tabel 3.1. Bahan-bahan lain yang digunakan adalah, akuades, larutan dapar fosfat pH 7,4, larutan isosalin, larutan hiposalin, larutan *tris buffer saline* (TBS), *bovine serum albumin* (BSA) (bioPLUS), natrium diklofenak (Phapros), asam asetat glasial, natrium hidroksida, suspensi sel darah merah kelinci, dan *syringe* (OneMed Disposable Syringe) untuk mengambil darah.

3.6 Etika Penelitian

Pengujian aktivitas antiinflamasi dengan metode stabilisasi membran dilakukan menggunakan sel darah merah kelinci. Izin dan persetujuan etik dalam penelitian ini diberikan oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dengan nomor 1749/UN25.8/KEPK/DL/2022 pada tanggal 10 November 2022.

Tabel 3.1 Daftar jamu merek X, Y, dan Z

Jamu	Produsen	Komposisi	Keterangan
X	PT. Industri Jamu dan Farmasi Sidomuncul, Tbk	Zingiber aromatica Rhizoma 1,4 g, Usnea misaminensis Thallus 1,4 g, Equiseti arvensis Herba 1,26 g, Zingiber officinale Rhizoma, Curcuma xanthorrhiza Rhizoma, Myristica fragrans Semen, Piper retrofractum Fructus, Imperata cylindrica Rhizoma, Stevia rebaudiana Folium	No. Reg: POM TR. 092 203 261 Knapsack: <i>Pain/Inflammation</i> (kelompok efek jamu) Khasiat: Membantu meredakan sakit kepala Isi: 7 gram
Y	PT. Industri Jamu dan Farmasi Sidomuncul, Tbk	Melaleuca leucadendra Fructus 0,7 g, Piper retrofractum Fructus 0,7 g, Zingiber aromatica Rhizoma 0,7 g, Languas galanga Rhizome 0,84 g, Curcuma xanthorrhiza Rhizoma 0,49 g, Baeckea frutescens Folium, Kaempferia galanga Rhizoma, Zingiber officinale Rhizoma, Blumea balsamifera Folium, Phyllanthus niruri Herba, Cyperus rotundus Rhizoma, Mentha arvensitis Herba, Foeniculum vulgare Fructus, Alyxia reinwardtii Cortex, Usnea misaminensis Thallus, Dioscorea hispida Tubera	No. Reg: POM TR. 102 219 821 Knapsack: <i>Pain</i> (efek jamu) Khasiat: Secara tradisional digunakan untuk membantu meredakan pegal linu dan nyeri otot Isi: 7 gram
Z	UD. Tugu Agung	Platycerium Folium 2,80 g, Achilleae Folium 2,80 g, Zingiberis Folium 2,50 g, Piperis Nigri Fructus 0,90 g	No. Reg: POM TR. 143 276 291 Knapsack: <i>Pain</i> (efek jamu) Khasiat: Secara tradisional membantu melancarkan haid dan meredakan nyeri saat haid Isi: 9 gram

3.7 Pemeliharaan Hewan Coba

Kelinci diadaptasikan selama 7 hari dalam kandang yang bersih dengan ventilasi yang baik, diberi makan dan minum *ad libitum*. Hal tersebut dilakukan untuk mendapatkan keseragaman dan mengontrol kesehatan hewan coba.

3.8 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan rancangan *post-test only control group design*. Cakupan dari penelitian ini adalah uji aktivitas antiinflamasi dari ekstrak jamu. Uji aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan metode stabilisasi membran sel darah merah kelinci dan inhibisi denaturasi protein. Penelitian terbagi ke dalam kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang mana keduanya akan diukur absorbansi sel darah yang pecah dan protein yang terdenaturasi kemudian dilakukan perhitungan stabilisasi membran sel darah merah kelinci dan inhibisi denaturasi protein. Skema dari rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.

3.9 Prosedur Penelitian

3.9.1 Seleksi Jamu

Jamu yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamu yang telah memenuhi kriteria inklusi sebagai berikut:

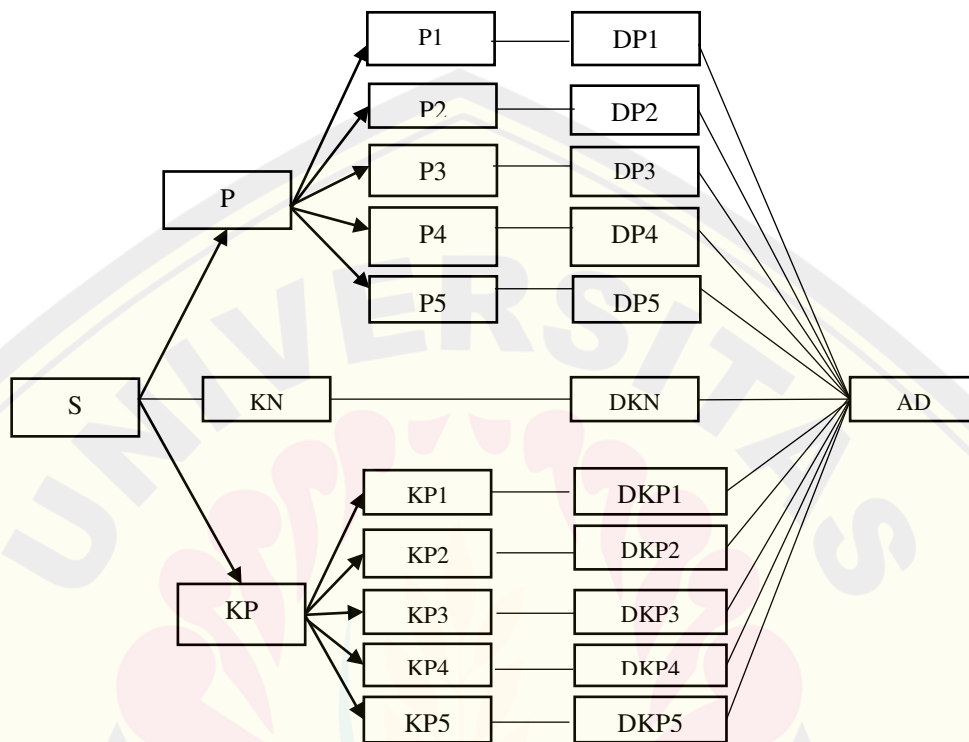
- a. Termasuk ke dalam urutan 50 jamu terlaris di *marketplace* Lazada dan Bukalapak
- b. Memiliki nomor registrasi BPOM yang terdaftar secara resmi, dipastikan melalui *website* <https://cekbpom.pom.go.id/>
- c. Memiliki khasiat yang berhubungan dengan inflamasi (dilihat dari kata kunci: *pain/inflammation*), dilihat dari grup efek jamu/efek jamu/sumber kemasan primer. Penelusuan grup efek jamu/efek jamu menggunakan *website* Knapsack

www.knapsackfamily.com/jamu/top.php

d. Digunakan dengan cara diminum/*per oral*

Kriteria eksklusi dalam seleksi jamu antara lain yaitu:

- a. Produk bukan jamu yang muncul dalam pencarian
- b. Jamu untuk hewan



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan:

- S = sampel
- K = kontrol
- P = perlakuan
- P1-5 = kelompok perlakuan
- KP = kontrol positif
- KP1-5 = kelompok kontrol positif
- KN = kontrol negatif
- DKP1-5 = data kelompok kontrol positif
- DKN = data kontrol negatif
- DP 1-5 = data kelompok perlakuan
- AD = analisis data

3.9.2 Ekstraksi Jamu

Jamu diseduh atau dilarutkan dengan akuades sesuai dengan cara penggunaan yang tertera di kemasan. Seduhan jamu disentrifugasi selama 8 menit dengan kecepatan putaran 6.000 rpm. Supernatan yang didapat kemudian dilakukan *freeze dry* selama 36 jam. Rendemen ekstrak dihitung menggunakan rumus:

$$\text{rendemen ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak hasil freeze dry}}{\text{bobot jamu}} \times 100\%$$

3.9.3 Uji Aktivitas Antiinflamasi Metode Stabilisasi Membran Sel Darah Merah

a. Pembuatan larutan dapar fosfat pH 7,4

Dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M) dibuat dengan pertama-tama melarutkan 13,35 g Dinatrium hidrogen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dalam akuades hingga volume 500 mL. Sekitar 4 g natrium dihidrogen fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) dilarutkan dalam akuades hingga volume 200 mL. Selanjutnya 80,8 mL larutan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dicampur dengan 19,2 mL larutan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ pada suhu ruang (Hardi dkk., 2019). Pengecekan pH dilakukan menggunakan pH meter dan disesuaikan hingga mencapai pH 7,4 (Oyedapo dkk., 2010). Larutan dapar fosfat pH 7,4 kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf suhu 121 °C selama 15 menit.

b. Pembuatan larutan isosalin

Larutan isosalin dibuat dengan melarutkan 2,125 g natrium klorida (NaCl) dalam larutan dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M) hingga volume 250 mL pada suhu ruang (Warsidah dkk., 2020). Larutan isosalin kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf suhu 121 °C selama 15 menit.

c. Pembuatan larutan hiposalin

Larutan hiposalin dibuat dengan melarutkan 0,625 g NaCl dalam larutan dapar fosfat pH 7,4 (0,04 M) hingga volume 250 mL pada suhu ruang (Warsidah dkk., 2020). Larutan hiposalin kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf suhu 121 °C selama 15 menit.

d. Pembuatan suspensi sel darah merah (10%v/v)

Sel darah merah diambil dari bagian telinga kelinci. Sekitar 3 mL sel darah merah kelinci dimasukkan ke dalam tabung EDTA lalu disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 3.000 rpm. Supernatan dipisahkan kemudian residu dipindahkan ke dalam tabung sentrifugasi, ditambahkan larutan isosalin, dan disentrifugasi kembali. Proses pembilasan tersebut dilakukan dalam 3 kali replikasi hingga warna larutan isosalin menjadi jernih. Selanjutnya suspensi sel darah merah 10% dibuat dengan mencampur 2 mL sel darah merah dengan 18 mL larutan isosalin (Warsidah dkk., 2020).

e. Pembuatan larutan sampel ekstrak jamu dan larutan natrium diklofenak

Larutan sampel ekstrak jamu dan larutan natrium diklofenak dibuat dalam beberapa konsentrasi menggunakan pelarut isosalin. Ekstrak jamu merek X dan Z dipreparasi sehingga menghasilkan larutan dengan konsentrasi 222, 444, 667, 889, dan 1110 µg/mL. Ekstrak jamu merek Y dipreparasi sehingga menghasilkan larutan dengan konsentrasi 222, 333, 556, 889, dan 1330 µg/mL. Natrium diklofenak dipreparasi sehingga didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 222 µg/mL. Larutan induk natrium diklofenak kemudian diencerkan menggunakan larutan isosalin menjadi beberapa seri konsentrasi, yaitu 178; 133; 88,9; dan 44,4 µg/mL.

f. Pembuatan larutan uji

Larutan uji (4,5 mL) terdiri dari 1 mL larutan sampel; 2 mL hiposalin; 1 mL dapar fosfat (pH 7,4); dan 0,5 mL suspensi sel darah merah (10%v/v) (Warsidah dkk., 2020).

g. Pembuatan larutan kontrol uji

Larutan kontrol uji (4,5 mL) terdiri dari 1 mL larutan sampel atau larutan natrium diklofenak; 2 mL hiposalin; 1 mL dapar fosfat (pH 7,4); dan 0,5 mL isosalin sebagai pengganti suspensi sel darah merah (Oyedapo dkk., 2010).

h. Pembuatan larutan kontrol positif

Larutan kontrol positif (4,5 mL) terdiri dari 1 mL larutan natrium diklofenak; 2 mL hiposalin; 1 mL dapar fosfat (pH 7,4); dan 0,5 mL suspensi sel darah merah (10%v/v).

i. Pembuatan larutan kontrol negatif

Larutan kontrol negatif (4,5 mL) terdiri dari 1 mL isosalin; 2 mL hiposalin; 1 mL dapar fosfat (pH 7,4); dan 0,5 mL suspensi sel darah merah (10%v/v).

j. Penentuan panjang gelombang maksimal

Panjang gelombang maksimal ditentukan berdasarkan optimasi kondisi analisis dengan cara mencampur 1 mL larutan natrium diklofenak; 2 mL hiposalin; 1 mL dapar fosfat (pH 7,4); dan 0,5 mL suspensi sel darah merah (10%v/v). Larutan tersebut kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu 56 °C dan disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 3.000 rpm. Supernatan diambil lalu diukur serapannya pada panjang gelombang 400-700 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

k. Penentuan *operating time*

Operating time ditentukan dengan cara mencampur 1 mL larutan natrium diklofenak; 2 mL hiposalin; 1 mL dapar fosfat (pH 7,4); dan 0,5 mL suspensi sel darah merah (10%v/v). Larutan tersebut kemudian dipanaskan selama 30 menit pada suhu 56 °C dan disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 3.000 rpm. Supernatan diambil lalu diukur serapannya pada panjang gelombang maksimal setiap 1 menit sekali menggunakan spektrofotometer UV-Vis hingga didapatkan absorbansi yang stabil.

l. Pembacaan absorbansi larutan uji dan larutan kontrol

Setiap larutan uji dan larutan kontrol diinkubasi selama 30 menit pada suhu 56 °C dan disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 3.000 rpm. Supernatan diambil lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal (Warsidah dkk., 2020).

m. Perhitungan stabilisasi membran sel darah merah

Stabilitas membran sel darah merah dapat dihitung menggunakan rumus di bawah (Oyedapo dkk., 2010):

$$\text{stabilitas membran sel darah merah} = 100 - \frac{(\text{Abs larutan uji/kontrol} - \text{Abs kontrol uji})}{\text{Abs kontrol negatif}} \times 100\%$$

Kontrol negatif menunjukkan 100% lisis sel darah merah atau 0% stabilitas.

3.9.4 Uji Aktivitas Antiinflamasi Metode Inhibisi Denaturasi Protein

a. Pembuatan *tris base saline* (TBS)

Sebanyak 4,35 g NaCl dilarutkan dalam 200 mL akuades, ditambahkan 605 mg *Tris base*, dan ditambahkan akuades hingga volume 400 mL. Pengecekan pH dilakukan menggunakan pH meter dan disesuaikan dengan penambahan asam asetat glasial hingga mencapai pH 6,7 lalu ditambahkan akuades hingga mencapai volume 500 mL (Farida dkk., 2018).

b. Pembuatan *bovine serum albumin* (BSA) 0,2% dalam TBS

Sebanyak 0,05 g BSA ditimbang kemudian dilarutkan menggunakan TBS. Larutan dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan akuades hingga mencapai volume 25 ml.

c. Pembuatan larutan sampel ekstrak jamu dan larutan natrium diklofenak

Larutan sampel ekstrak jamu dan larutan natrium diklofenak dibuat dalam beberapa konsentrasi menggunakan pelarut akuades. Ekstrak jamu merek X dipreparasi sehingga menghasilkan larutan dengan konsentrasi 20; 40; 60; 80; dan 100 µg/mL. Ekstrak jamu merek Y dipreparasi sehingga menghasilkan larutan dengan konsentrasi 20; 30; 50; 80; dan 120 µg/mL. Ekstrak jamu merek Z dipreparasi sehingga menghasilkan larutan dengan konsentrasi 55; 80; 105; 130; dan 155 µg/mL. Natrium diklofenak dipreparasi sehingga didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 10 µg/mL. Larutan induk natrium diklofenak kemudian diencerkan

menggunakan akuades menjadi beberapa seri konsentrasi, yaitu 2; 4; 6; dan 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

d. Pembuatan larutan kontrol negatif

Larutan kontrol negatif terdiri dari 5 μL akuades yang ditambahkan larutan BSA 0,2% dalam TBS hingga mencapai volume 500 μL (Farida dkk., 2018).

e. Pembuatan larutan uji

Larutan uji terdiri dari 5 μL larutan sampel ekstrak jamu yang ditambahkan larutan BSA 0,2% dalam TBS hingga mencapai volume 500 μL .

f. Pembuatan larutan kontrol positif

Larutan kontrol positif terdiri dari 5 μL larutan natrium diklofenak yang ditambahkan larutan BSA 0,2% dalam TBS hingga mencapai volume 500 μL .

g. Penentuan *operating time*

Operating time ditentukan dengan cara mencampur 5 μL larutan natrium diklofenak dengan larutan BSA 0,2% dalam TBS hingga mencapai volume 500 μL . Larutan tersebut lalu dipanaskan selama 30 menit pada suhu 25 °C, dipanaskan selama 5 menit pada suhu 85 °C, dan didinginkan selama 20 menit pada suhu 25 °C. Selanjutnya dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 660 nm setiap 2 menit sekali menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

h. Pembacaan absorbansi

Setiap larutan uji dan larutan kontrol dipanaskan selama 30 menit pada suhu 25 °C, dipanaskan selama 5 menit pada suhu 85 °C, lalu didinginkan selama 20 menit pada suhu 25 °C (Farida dkk., 2018). Selanjutnya dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 660 nm menggunakan *ELISA reader*.

i. Perhitungan persentase inhibisi denaturasi protein

Inhibisi denaturasi protein dapat dihitung menggunakan rumus di bawah (Leelaprakash dan Dass, 2011):

$$\text{inhibisi denaturasi protein} = \frac{\text{Abs kontrol negatif} - \text{Abs larutan uji}}{\text{Abs kontrol negatif}} \times 100\%$$

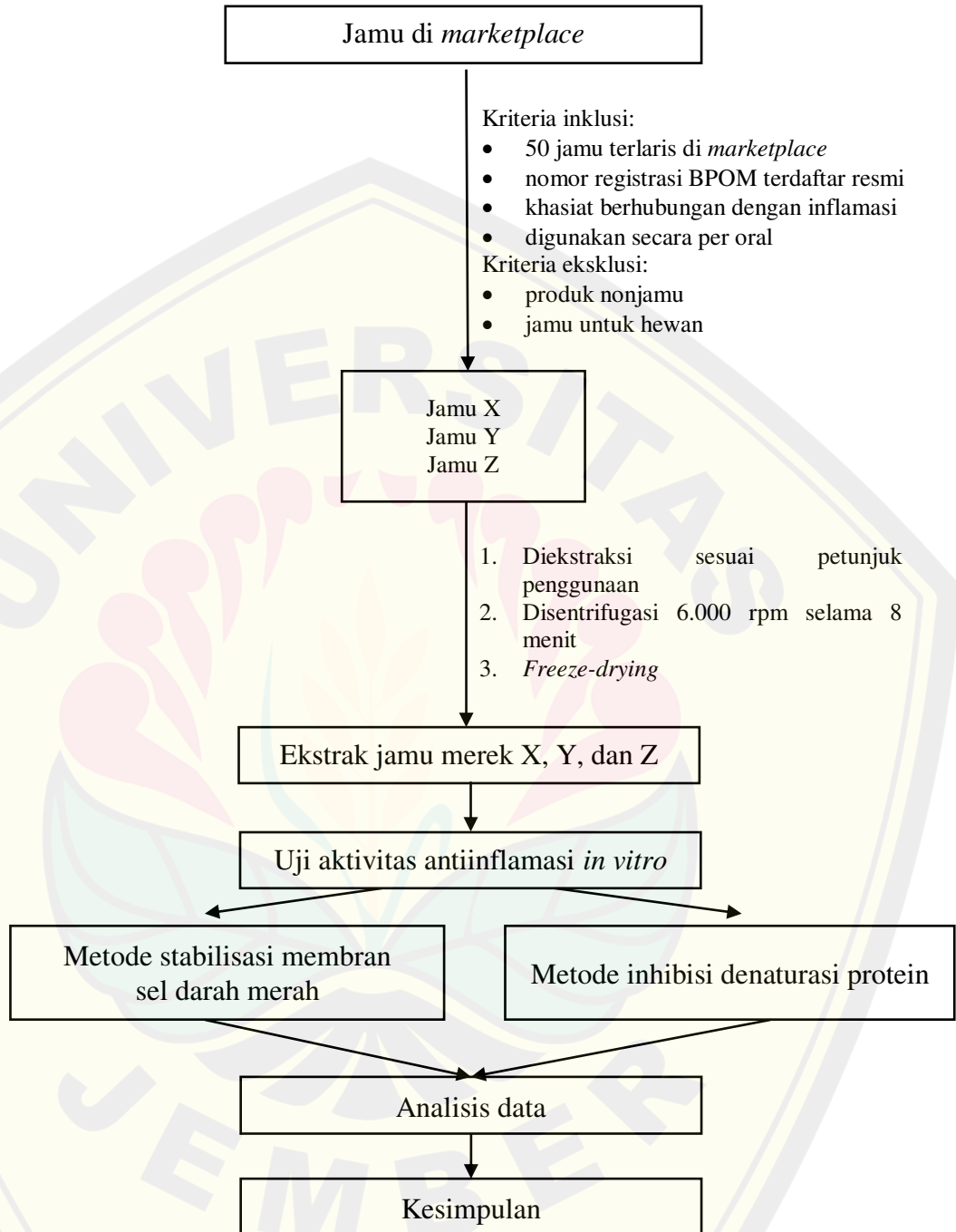
Selanjutnya dibuat persamaan regresi linear antara konsentrasi (X) dan inhibisi denaturasi protein (Y) sehingga dapat dihitung nilai IC₅₀. Pada pengujian ini, jika dihasilkan inhibisi denaturasi protein lebih dari 20% maka dianggap memiliki aktivitas antiinflamasi (Farida dkk., 2018).

3.10 Analisis Hasil

Hasil pengujian aktivitas antiinflamasi *in vitro* dari ekstrak jamu dengan metode stabilisasi membran sel darah merah dan inhibisi denaturasi protein yaitu berupa nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ didapatkan dari persamaan regresi linear antara konsentrasi (X) dan inhibisi denaturasi protein atau stabilitas membran (Y) (Farida dkk., 2018). Setelah didapatkan persamaan regresi, kemudian variabel (Y) disubstitusi dengan angka 50 sehingga diperoleh konsentrasi (X) sebagai nilai IC₅₀.

Data yang didapatkan dari hasil pengujian, dilakukan uji normalitas Shapiro-Wilk dikarenakan sampel berjumlah kurang dari 50 dan uji homogenitas Levene. Uji normalitas ditujukan untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal dilihat dari pemusatan nilai rata-rata dan median. Uji homogenitas ditujukan untuk mengetahui apakah sampel berasal dari populasi dengan varians yang sama (homogen). Data dinyatakan terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan pengujian *One Way Analysis of Varians* (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 99%. Uji ANOVA ditujukan untuk mengetahui hasil beda rata-rata keseluruhan dan perbedaan antar kelompok. Hasil pengujian ANOVA dinyatakan signifikan, maka dilanjutkan uji *post-hoc LSD*.

3.11 Skema Kerja Penelitian



BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Jamu Merek X, Y, dan Z

Jamu X, Y, dan Z yang digunakan dalam penelitian ini dipilih berdasarkan urutan 50 jamu terlaris di *market place* Lazada dan Bukalapak yang kemudian diseleksi berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Jamu X dan Y merupakan produksi dari PT. Industri Jamu dan Farmasi Sidomuncul, Tbk yang masing-masing telah terjual sebanyak 451 pcs dan 509 pcs di Bukalapak. Jamu Z merupakan produksi UD. Tugu Agung yang telah terjual sebanyak 5.400 pcs di Lazada dan 1.439 pcs di Bukalapak. Berdasarkan laman SIMADA Kementerian Kesehatan, diketahui bahwa PT. Industri Jamu dan Farmasi Sidomuncul, Tbk merupakan industri obat tradisional (IOT) yang berada di Provinsi Jawa Tengah, sedangkan UD. Tugu Agung merupakan usaha kecil obat tradisional (UKOT) yang berada di Provinsi DKI Jakarta. Hingga saat penelitian berlangsung jamu merek X, Y, dan Z tidak tercantum dalam *public warning* BPOM mengenai produk obat tradisional dan suplemen kesehatan yang ditarik dari peredaran karena alasan keamanan antara lain produk mengandung bahan kimia obat (BKO) yang berisiko terhadap kesehatan.

Proses ekstraksi jamu X, Y, dan Z dilakukan sesuai dengan petunjuk penggunaan yang tertera di kemasan. Hal tersebut dilakukan untuk mendapatkan hasil ekstraksi yang sesuai dengan penggunaan di masyarakat, sehingga diharapkan sejalan dengan khasiat yang didapatkan. Untuk memisahkan endapan dan cairan yang mengandung ekstrak jamu maka dilakukan proses sentrifugasi. Ekstrak cair kemudian dikeringkan dengan metode *freeze-drying* pada suhu $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 36 jam. Setelah melalui proses tersebut ekstrak akan dapat disimpan dalam waktu lebih lama akibat penghilangan 95%-99,5% air (Gaidhani dkk., 2015). Hasil ekstraksi jamu X, Y, dan Z ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Rendemen ekstrak jamu X, Y, dan Z

Jamu	Rendemen (%b/b)
X	9,436
Y	9,897
Z	9,390

4.2 Uji Aktivitas Antiinflamasi *In Vitro*

Uji aktivitas antiinflamasi *in vitro* yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan 2 metode yaitu inhibisi denaturasi protein dan stabilisasi membran sel darah merah. Keduanya menggunakan natrium diklofenak sebagai kontrol positif yang merupakan golongan OAINS poten (Skoutakis dkk., 1988). Konsentrasi natrium diklofenak yang digunakan dalam penelitian merupakan hasil optimasi dengan terlebih dahulu mengacu pada literatur terkait. Konsentrasi uji kemudian akan disesuaikan secara bertahap apabila terdapat kondisi *plateau* atau belum mencakup IC_{50} . Hal tersebut bertujuan agar hasil penelitian tidak berasal dari ekstrapolasi hasil uji.

Pada uji aktivitas antiinflamasi *in vitro* metode stabilisasi membran sel darah merah, berdasarkan optimasi kondisi analisis didapatkan panjang gelombang maksimal sebesar 576 nm (Lampiran 4.4.1) dan *operating time* pada menit ke-7 (Lampiran 4.2.5). Optimasi panjang gelombang maksimal dilakukan karena pembacaan pada panjang gelombang maksimal akan menghasilkan absorpsi tertinggi oleh sampel sehingga galat dapat diminimalisir (Pratiwi dan Nandiyanto, 2021). Optimasi *operating time* dilakukan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan sampel untuk mencapai absorbansi yang konstan. Hasil optimasi kondisi analisis sejalan dengan teori bahwa hemoglobin menghasilkan puncak serapan pada panjang gelombang sekitar 410 nm dan 500 - 600 nm (Nonoyama, 2004). Penelitian yang dilakukan oleh Huynh dkk (2017) juga menunjukkan bahwa terjadinya hemolisis dapat dikuantifikasi melalui konsentrasi hemoglobin yang menghasilkan serapan pada panjang gelombang 340 - 440 nm dan 540 - 580 nm. Ishiguro dkk (2020) merekomendasikan panjang gelombang yang digunakan untuk mengukur indeks hemolisis yaitu 571 nm atau sekitarnya.

Hasil optimasi panjang gelombang juga tidak jauh berbeda dengan penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa hemoglobin menghasilkan puncak serapan pada panjang gelombang antara 400 - 700 nm, yaitu 415, 541, dan 577 nm. Pengukuran pada panjang gelombang 577 nm dikatakan memiliki kelebihan karena paling jauh dari puncak bilirubin (460 - 464 nm) dan plasma serta minim pengaruh oleh albumin dan lipid (Malinauskas, 1997).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa natrium diklofenak sebagai kontrol positif menghasilkan nilai IC_{50} terkecil yaitu sebesar $105,169 \pm 3,022$ $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi dimana terjadi penghambatan hemolisis sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} , maka semakin besar aktivitas penghambatan yang dimiliki. Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan, ekstrak jamu merek X, Y, dan Z menunjukkan nilai IC_{50} rata-rata yang lebih tinggi dibanding natrium diklofenak dengan urutan $X = Y < Z$, ditunjukkan pada Tabel 4.2. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa natrium diklofenak memiliki aktivitas penghambatan terhadap hemolisis yang lebih baik dibanding ketiga ekstrak jamu dengan urutan $X = Y > Z$. Dari analisis statistik dapat diketahui bahwa jamu Z memiliki perbedaan aktivitas yang signifikan dibanding jamu X dan Y ($p < 0,01$), sedangkan jamu X dan Y memiliki aktivitas yang tidak berbeda signifikan ($p > 0,01$). Hal tersebut

Tabel 4.2 Hasil uji aktivitas antiinflamasi *in vitro*

Jamu	Stabilisasi membran sel darah merah		Inhibisi denaturasi protein	
	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)*	Kategori	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)*	Kategori
X	$786,540 \pm 27,152^a$	Sangat lemah	$76,921 \pm 1,034^a$	Cukup kuat
Y	$840,907 \pm 30,425^a$	Sangat lemah	$89,349 \pm 1,207^b$	Cukup kuat
Z	$964,277 \pm 32,258^c$	Sangat lemah	$153,899 \pm 2,682^c$	Sedang
Kontrol positif	$105,169 \pm 3,022$	Sedang	$4,749 \pm 0,089$	Kuat

*Data IC_{50} ditunjukkan dalam nilai rata-rata \pm SD. Nilai rata-rata pada kolom yang sama diikuti huruf superscript yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok penelitian ($p < 0,01$). Kontrol positif yang digunakan yaitu natrium diklofenak.

mungkin disebabkan oleh adanya kesamaan beberapa komposisi tanaman dalam jamu X dan Y yang berkontribusi terhadap aktivitas stabilisasi membran sel darah merah, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Komposisi jamu merek X, Y, dan Z

Tanaman	Nama lokal	Bagian yang digunakan	Jamu		
			X	Y	Z
<i>Zingiber aromaticum</i>	lempuyang wangi	akar	V	V	
<i>Usnea misaminensis</i>	kayu angin	talus	V	V	
<i>Equisetum arvensis</i>	ekor kuda	herba	V		
<i>Zingiber officinale</i>	jahe	akar	V	V	
<i>Curcuma xanthorrhiza</i>	temulawak	akar	V	V	
<i>Myristica fragrans</i>	pala	biji	V		
<i>Piper retrofractum</i>	cabai jawa	buah	V	V	
<i>Imperata cylindrica</i>	alang-alang	akar	V		
<i>Stevia rebaudiana</i>	stevia	daun	V		
<i>Melaleuca leucadendra</i>	kayu putih	buah		V	
<i>Languas galanga</i>	lengkuas	akar		V	
<i>Baeckea Frutescens</i>	ujung atap	daun		V	
<i>Kaempferia galanga</i>	kencur	akar		V	
<i>Blumea balsamifera</i>	sembung	daun		V	
<i>Phyllanthus niruri</i>	meniran	herba		V	
<i>Cyperus rotundus</i>	rumput teki	akar		V	
<i>Mentha arvensis</i>	mint	herba		V	
<i>Foeniculum vulgare</i>	adas	buah		V	
<i>Alyxia reinwardtii</i>	pulasari	kulit batang		V	
<i>Dioscorea hispida</i>	gadung	umbi		V	
<i>Platycerium</i>	paku	daun			V
<i>Achilleae</i>	seribu	daun			V
<i>Zingiber</i>	jahe	daun			V
<i>Piper nigrum</i>	lada	buah			V

Pada uji aktivitas antiinflamasi *in vitro* metode inhibisi denaturasi protein, berdasarkan optimasi kondisi analisis didapatkan *operating time* pada menit ke-5 (Lampiran 4.3.5). Protein yang mengalami denaturasi diukur pada panjang gelombang 660 nm karena merupakan panjang gelombang untuk mengukur turbiditi secara spektrofotometri (Marrassini dkk., 2018). Hal tersebut juga direkomendasikan oleh Baier dkk (2004) dalam penelitian antiagregasi BSA untuk menghindari adanya interferensi dari absorpsi kromofor, sehingga nantinya dapat disimpulkan bahwa peningkatan absorbansi merupakan hasil dari peningkatan agregat yang terbentuk.

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan, ekstrak jamu merek X, Y, dan Z memiliki aktivitas inhibisi denaturasi protein, ditunjukkan oleh nilai IC_{50} pada Tabel 4.2. Nilai tersebut masih lebih tinggi dibanding natrium diklofenak sebagai kontrol positif, yaitu $4,749 \pm 0,089 \mu\text{g/mL}$. Dari analisis statistik dapat diketahui bahwa jamu X, Y, dan Z memiliki perbedaan aktivitas yang signifikan satu sama lain ($p < 0,01$), dengan urutan $X > Y > Z$. Hal tersebut dapat terjadi karena jamu merek X, Y, dan Z terdiri dari komposisi tanaman yang mayoritas berbeda sehingga memiliki aktivitas yang berbeda satu sama lain terhadap inhibisi denaturasi protein.

Aktivitas antiinflamasi dapat dikelompokkan menjadi sangat kuat ($IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$), kuat ($IC_{50} 50-100 \mu\text{g/mL}$), sedang ($IC_{50} 101-250 \mu\text{g/mL}$), lemah ($IC_{50} 251-500 \mu\text{g/mL}$), dan sangat lemah ($IC_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$) (Jun dkk., 2003). Berdasarkan hal tersebut, maka aktivitas ekstrak jamu merek X, Y, dan Z dapat dikelompokkan seperti pada Tabel 4.2. Pada metode stabilisasi membran sel darah merah, ketiga ekstrak jamu menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang sangat lemah. Meskipun demikian, ekstrak jamu merek X dan Y menunjukkan aktivitas antiinflamasi cukup kuat serta jamu merek Z menunjukkan aktivitas antiinflamasi sedang pada metode inhibisi denaturasi protein. Hasil uji aktivitas antiinflamasi *in vitro* ekstrak jamu dalam penelitian ini lebih baik dibanding ekstrak jamu merek A, C, dan D dengan metode yang sama dalam penelitian Apriliani (2023). Kontrol negatif natrium diklofenak pada kedua metode memiliki aktivitas antiinflamasi yang lebih tinggi dibanding ketiga ekstrak jamu. Hal ini dikarenakan natrium diklofenak merupakan golongan OAINS yang mampu menghambat pelepasan mediator inflamasi sehingga secara teoritis pasti memiliki aktivitas antiinflamasi yang kuat. Dalam penelitian ini, natrium diklofenak berperan sebagai kontrol positif untuk memastikan bahwa metode yang dilakukan dalam penelitian ini sudah sesuai. Karena ekstrak jamu merek X, Y, dan Z dapat menghambat terjadinya denaturasi protein lebih dari 20%, maka ketiganya dikatakan memiliki aktivitas antiinflamasi dan hasil tersebut dapat dijadikan acuan dalam pengembangan obat (Farida dkk., 2018), khususnya obat tradisional.

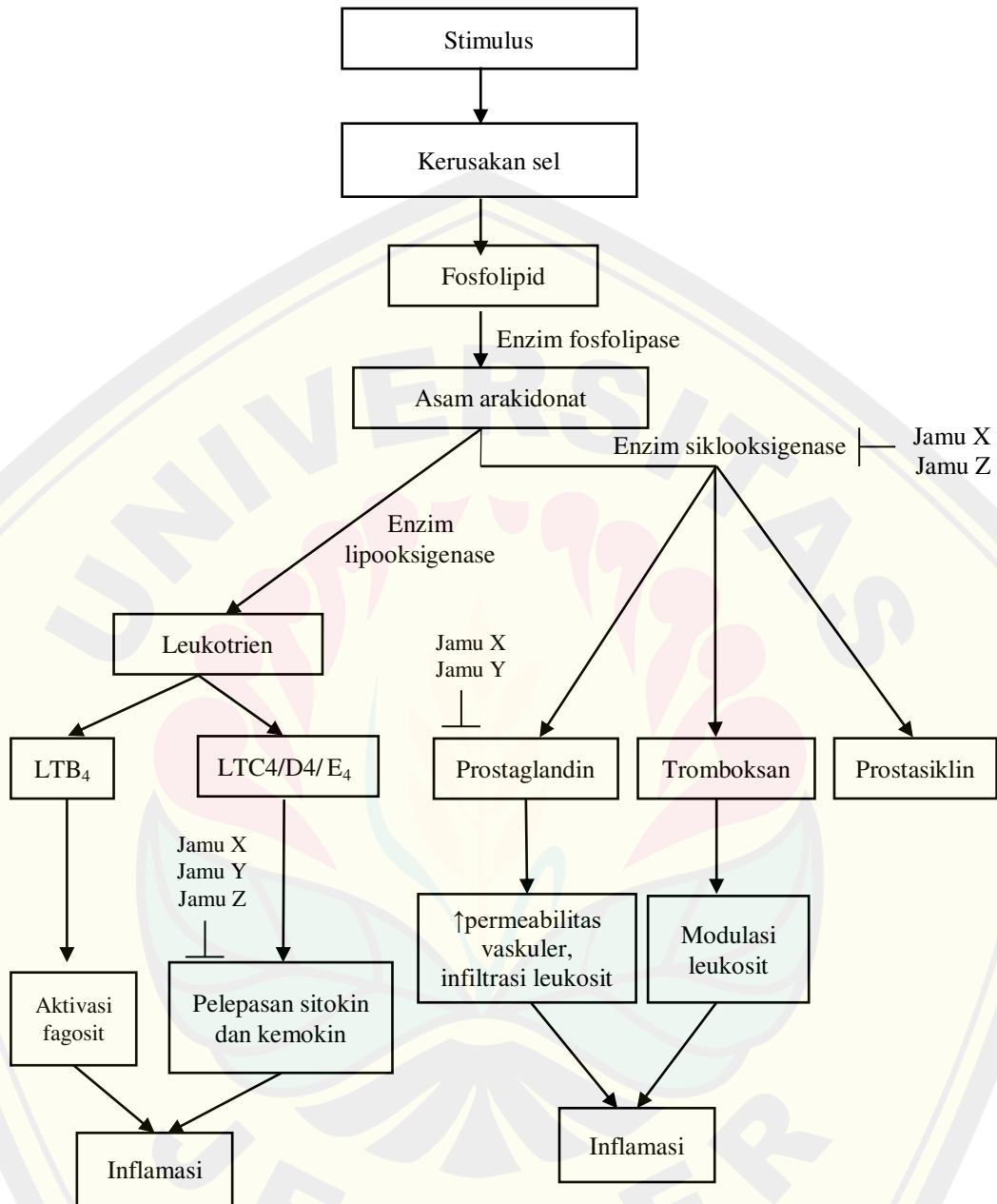
Berdasarkan Tabel 4.4 diketahui bahwa pada dasarnya komponen terbesar penyusun jamu X, Y, dan Z masing-masing memiliki aktivitas antiinflamasi. Berkaitan dengan hal tersebut, ekstrak jamu merek X, Y, dan Z memiliki aktivitas antiinflamasi *in vitro* serta diduga mampu menghambat enzim siklooksigenase, prostaglandin, dan menurunkan produksi sitokin inflamasi seperti yang dapat dilihat pada Gambar 4.1. Secara keseluruhan, komposisi ketiga jamu yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari berbagai macam tanaman dengan kandungan senyawa bioaktif yang tentunya beragam. Hal ini memungkinkan terjadinya interaksi kandungan bioaktif antar tanaman, baik berupa efek sinergis maupun antagonis (Syahrir dkk., 2016). Hal tersebut diduga berkontribusi terhadap hasil uji aktivitas antiinflamasi *in vitro* dalam penelitian ini dimana komponen tanaman terbesar dalam jamu X, Y, dan Z dapat diasumsikan menyumbang aktivitas terbesar.

Senyawa bioaktif yang terdapat dalam komposisi terbesar jamu X, Y, dan Z diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi seperti yang terlihat pada Tabel 4.4. Secara garis besar, jamu X, Y, dan Z tersusun atas tanaman dengan kandungan fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid, saponin, sterol, dan fenolik. Banyak penelitian menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut berperan dalam aktivitas antiinflamasi. Flavonoid diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi dengan menghambat pembentukan prostaglandin melalui jalur siklooksigenase dan 5-lipooksigenase (Panche dkk., 2016). Berdasarkan penelitian lain, flavonoid dan saponin memiliki efek stabilisasi membran lisosom dalam pengujian *in vitro* maupun *in vivo*, sedangkan tanin dan saponin memiliki kemampuan pengikatan terhadap kation yang berperan dalam stabilisasi membran sel darah merah dan makromolekul biologi lainnya (Oyedapo dkk., 2010). Penelitian yang dilakukan oleh Chippada dkk (2011) menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dan triterpenoid memiliki aktivitas antiinflamasi melalui stabilisasi membran sel darah merah. Senyawa alkaloid diketahui memiliki aktivitas penghambatan enzim siklooksigenase *in vitro* (Souto dkk., 2011). Dalam penelitian oleh Akhter dkk (2022), benzil-isokuinolin alkaloid mampu menghambat denaturasi protein sehingga

Tabel 4.4 Tinjauan aktivitas antiinflamasi komponen terbesar jamu

Tanaman	Bagian yang digunakan	Terdapat dalam komposisi jamu			Uji aktivitas antiinflamasi	Hasil	Pustaka
		X	Y	Z			
<i>Zingiber aromaticum</i>	akar	V	V		<i>in vitro</i>	Zerumbon mampu menurunkan PGE ₂ , NO, IL-1β, dan IL-6 pada sel J774A.1 yang diinduksi LPS	(Murwanti dkk., 2023)
<i>Usnea misaminensis</i>	talus	V			<i>in silico</i>	Asam evernat, asam usnat, dan asam salizinat dari kayu angin berpotensi sebagai agen antiinflamasi melalui penghambatan enzim COX-2	(Al-Ghani dkk., 2022)
<i>Equisetum arvensis</i>	herba	V			<i>in vivo</i>	50 mg/kg ekstrak hidroalkoholik dapat mengurangi edema kaki tikus 2 jam (25%) dan 4 jam (30%) setelah pemberian karagenan	(Al-Snafi, 2017)
					<i>in vitro</i>	Silika dan isokuersitrin dalam preparasi <i>E.arvense</i> mampu menghambat aktivasi dan proliferasi limfosit melalui mekanisme IL-2	Steinborn dkk., 2018
<i>Melaleuca leucadendra</i>	buah		V		<i>in vitro</i>	Ekstrak butanol dapat menghambat produksi PGE ₂ dan NO yang diinduksi LPS secara signifikan	(Surh dan Yun, 2012)
<i>Piper retrofractum</i>	buah	V			<i>in vivo</i>	Fraksi etanol dosis 30, 60, dan 90 mg/kg mampu mengurangi edema kaki mencit yang diinduksi formalin masing-masing sebesar 0,40 ± 0,14; 0,40 ± 0,10; dan 0,40 ± 0,11 mm secara signifikan dibanding kontrol negatif	(Syafitri, 2018)
					<i>in vivo</i>	Ekstrak etanol dosis 100, 200, dan 400 mg menghasilkan aktivitas penghambatan yang signifikan terhadap <i>pleurisy</i> tikus yang diinduksi karagenan	(Subash dkk., 2016)
<i>Languas galanga</i>	akar	V			<i>in vitro</i>	Fraksi etil asetat mampu menghambat denaturasi protein dengan IC ₅₀ sebesar 45,6 ± 0,4 µg/mL	(Nampoothiri dkk., 2017)
					<i>in vitro</i>	<i>p</i> -hidroksisinamaldehyd mampu menghambat IL-1β	(Phitak dkk., 2009)
<i>Curcuma xanthorrhiza</i>	akar	V			<i>in vivo</i>	Ekstrak etanol secara signifikan mampu menghambat produksi sitokin inflamasi seperti TNF-α, IL-6, IL-1b, dan CRP di jaringan adiposa, hati, dan otot	(Kim dkk., 2014)
					<i>in vitro</i>	Ekstrak etanol mampu menghambat denaturasi protein dengan nilai IC ₅₀ sebesar 521,67 ± 5,80 µg/mL	(Farida dkk., 2018)
					<i>in vivo</i>	Xanthorrhizol mampu menghambat produksi sitokin inflamasi seperti TNF-α, IL-6, IL-1β, dan CRP dalam jaringan adiposa, hati, dan otot	(Kim dkk., 2014)

Tanaman	Bagian yang digunakan	Terdapat dalam komposisi jamu			Uji aktivitas antiinflamasi	Hasil	Pustaka
		X	Y	Z			
<i>Platycerium</i>	daun			V	<i>in vitro</i>	Fraksi E dan F <i>Platycerium angolense</i> memiliki aktivitas stabilisasi membran sel darah merah dengan nilai IC ₅₀ sebesar 110 dan 130 µg/mL	(Bode dan Oyedapo, 2011)
<i>Achilleae</i>	daun			V	<i>in vivo</i>	Ekstrak kloroform <i>Achilleae</i> dosis 1, 3, dan 5 mg/telinga secara signifikan mampu mengurangi edema masing-masing sebesar 50, 66, dan 82%	(Gómez dkk., 1999)
					<i>in vitro</i>	Millefolacton C, guainolida yang diisolasi dari <i>A. millefolium</i> , mampu menurunkan ekspresi NLRP3, ASC, dan IL-1β pada sel BV2 yang distimulasi LPS, menekan sitokin pro inflamasi, dan menghambat COX-2	(Li dkk., 2023)
<i>Zingiber</i>	daun			V	<i>in vivo</i>	Ekstrak etanol daun jahe dosis 20, 40, dan 80 mg/100 gBB mampu menghambat volume edema kaki tikus sebesar 48,15; 66,67; dan 74,07% pada jam ke-6	(Riyanti, 2015)
<i>Piper nigrum</i>	buah			V	<i>in vivo</i>	Ekstrak etanol dosis 10 mg/kg menunjukkan aktivitas antiinflamasi terhadap edema kaki tikus yang diinduksi karagenan	(Tasleem dkk., 2014)
					<i>in vivo</i>	Piperin dosis 10 mg/kgBB mampu menurunkan tingkat TNF-α dan IL-1β pada tikus yang diinduksi 6-OHDA	(Shrivastava dkk., 2013)



Gambar 4.1 Dugaan mekanisme antiinflamasi ekstrak jamu merek X, Y, dan Z

menghasilkan penurunan IL-6, NF-kB, COX-2, dan PGE₂ pada tikus reumatik. Secara umum, sterol diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi dalam pengujian *in vitro* maupun *in vivo*. Sterol juga berperan dalam penghambatan sintesis dan pelepasan PGE₂ yang merupakan eikosanoid proinflamasi poten (Lippiello dkk., 2008). Komponen fenolik mampu mengurangi produksi IL-1 β yang berperan dalam aktivitas antiinflamasi (Crouvezier dkk., 2001).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak jamu merek X, Y, dan Z memiliki aktivitas antiinflamasi *in vitro* melalui stabilisasi membran sel darah merah dan inhibisi denaturasi protein. Hal tersebut didukung oleh komposisi terbesar penyusun ketiga jamu yang terdiri dari tanaman yang diketahui memiliki potensi aktivitas antiinflamasi. Dikarenakan hingga saat ini masih sangat sedikit penelitian lain mengenai hal serupa, maka penelitian ini dapat dijadikan sebagai langkah skrining awal potensi aktivitas antiinflamasi ekstrak jamu. Penelitian *in vivo* perlu dilakukan untuk mengetahui potensi aktivitas ekstrak jamu di dalam makhluk hidup yang lebih kompleks dengan dipengaruhi faktor fisiologis. Selain itu, perlu dilakukan studi mengenai interaksi kombinasi tanaman yang terdapat dalam komposisi jamu untuk mengetahui adanya efek sinergis maupun antagonis yang dapat memengaruhi aktivitas antiinflamasi.

BAB 5 PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak jamu merek X, Y, dan Z memiliki aktivitas antiinflamasi sangat lemah dengan urutan $X = Y > Z$ terhadap stabilisasi membran sel darah merah
2. Ekstrak jamu merek X, Y, dan Z masing-masing memiliki aktivitas antiinflamasi cukup kuat dan sedang dengan urutan $X > Y > Z$ terhadap inhibisi denaturasi protein

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi aktivitas antiinflamasi ekstrak jamu *in vivo* untuk memberikan landasan ilmiah (*evidence based*) penggunaan jamu sebagai bentuk kontribusi dalam program saintifikasi jamu. Selain itu perlu dilakukan studi interaksi mengenai kombinasi tanaman yang digunakan dalam ramuan jamu untuk meningkatkan efek yang menguntungkan dan meminimalisir terjadinya efek yang merugikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulkhaleq, L. A., M. A. Assi, R. Abdullah, M. Zamri-Saad, Y. H. Taufiq-Yap, dan M. N. M. Hezmee. 2018. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: a review. *Veterinary World*. 11(5):627.
- Aditama, T. Y. 2014. *Jamu & Kesehatan*. Jakarta: Lembaga Penerbit Balitbangkes.
- Agnihotri, S., S. Wakode, dan A. Agnihotri. 2010. An overview on anti-inflammatory properties and chemo-profiles of plants used in traditional medicine. *Indian Journal of Natural Products and Resources*. 1(2):150–167.
- Akhter, S., H. M. Irfan, Alamgeer, A. Ullah, S. Jahan, M. Roman, M. B. Latif, Z. Mustafa, F. M. Almutairi, dan Y. S. Althobaiti. 2022. Noscapipe hydrochloride (benzyl-isoquinoline alkaloid) effectively prevents protein denaturation through reduction of IL-6, NF- κ B, COX-2, prostaglandin-E2 in rheumatic rats. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 30(12):1791–1801.
- Al-Ghani, R., W. P. Nirwani, T. N. Novianti, dan A. G. P. Sari. 2022. In silico anti-inflammatory activity evaluation from *Usnea misaminensis* through molecular docking approach. *Chemistry and Materials*. 1(3):77–82.
- Al-Snafi, A. E. 2017. The pharmacology of *Equisetum arvense*-a review. *IOSR Journal of Pharmacy*. 7(2):31–42.
- Apriliani, P. D. 2023. Efektivitas Ekstrak Jamu Merek A, B, C, D terhadap Stabilisasi Membran Sel Darah Merah dan Inhibisi Denaturasi Protein. Universitas Jember.
- Baier, S. K., E. A. Decker, dan D. J. McClements. 2004. Impact of glycerol on thermostability and heat-induced gelation of bovine serum albumin. *Food Hydrocolloids*. 18(1):91–100.
- Banerjee, S., A. Chanda, A. Adhikari, A. K. Das, dan S. Biswas. 2014. Evaluation of phytochemical screening and anti inflammatory activity of leaves and stem of *Mikania scandens* (L.) wild. *Annals of Medical and Health Sciences Research*. 4(4):532–536.
- Barragán-Zarate, G. S., L. Lagunez-Rivera, R. Solano, E. A. Pineda-Peña, A. Y. Landa-Juárez, A. E. Chávez-Piña, C. Carranza-Álvarez, dan D. M. Hernández-Benavides. 2020. *Prosthechea karwinskii*, an orchid used as traditional medicine, exerts anti-inflammatory activity and inhibits ros. *Journal of Ethnopharmacology*. 253:112632.

- Bode, S. O. dan O. O. Oyedapo. 2011. Biological activities and phytoconstituents of the lower plant *Platyserium angolense*, welwex hook. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(8):1321–1329.
- Chippada, S. C., S. S. Volluri, S. R. Bammidi, dan M. Vangalapati. 2011. In vitro anti-inflammatory activity of methanolic extract of *Centella asiatica* by hrbc membrane stabilisation. *Rasayan J Chem*. 4(2):457–460.
- Corwin, E. J. 1999. *Handbook of Pathophysiology*. Edisi 2. Lippincott Williams & Wilkins.
- Crouvezier, S., B. Powell, D. Keir, dan P. Yaqoob. 2001. THE effects of phenolic components of tea on the production of pro- and anti-inflammatory cytokines by human leukocytes in vitro. *Cytokine*. 13(5):280–286.
- Dey, P., P. Chatterjee, S. Chandra, dan S. Bhattacharya. 2011. Comparative in vitro evaluation of anti-inflammatory effects of aerial parts and roots from *Mikania scandens*. *J Adv Pharm Technol Res*. 1:271–277.
- Erianti, F., D. Marisa, dan E. Suhartono. 2015. Potensi antiinflamasi jus buah belimbing (*Averrhoa carambola* L.) terhadap denaturasi protein in vitro. *Berkala Kedokteran*. 11(1):33–39.
- Farida, Y., D. Rahmat, dan 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(2):225–230.
- Gaidhani, K. A., M. Harwalkar, D. Bhambere, dan P. S. Nirgude. 2015. Lyophilization/freeze drying—a review. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 4(8):516–543.
- Gómez, M. A., M. T. Sáenz, M. D. García, dan M. A. Fernández. 1999. Study of the topical anti-inflammatory activity of *Achillea ageratum* on chronic and acute inflammation models. 54(11):937–941.
- Hardi, R. S., S. Slamet, dan L. Kamilla. 2019. Uji aktivitas anti inflamasi ekstrak bawang dayak (*Eleutherine americana* L. merr) terhadap stabilisasi membran sel darah merah. *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa*. 2(1):30–36.
- Huynh, T., M. J. Lai, Y. L. Liu, L. Ly, X. Gong, K. R. Rommel, dan D. L. Young. 2017. Spectral analysis methods based on background subtraction and curvature calculation used in the detection or quantification of hemolysis and icterus in blood-derived clinical samples. *Cureus*. 9(12):e1965.

- IARC. 2020. GLOBOCAN 2020. <https://gco.iarc.fr/today/home> [Diakses pada November 29, 2022].
- Ishiguro, A., M. Nishioka, A. Morishige, R. Kawano, T. Kobayashi, A. Fujinaga, F. Takagi, T. Kogo, Y. Morikawa, dan N. Okayama. 2020. What is the best wavelength for the measurement of hemolysis index? *Clinica Chimica Acta*. 510:15–20.
- Jun, M., H. Fu, J. Hong, X. Wan, C. S. Yang, dan C. Ho. 2003. Comparison of antioxidant activities of isoflavones from kudzu root (*Pueraria lobata* ohwi). *Journal of Food Science*. 68(6):2117–2122.
- Katzung, B. dan T. Vanderah. 2020. *Basic and Clinical Pharmacology*. Edisi 15. New York: McGraw-Hill Education.
- Kementerian Kesehatan RI. 2018. *Riset Kesehatan Dasar 2018*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Kim, M.-B., C. Kim, Y. Song, dan J.-K. Hwang. 2014. Antihyperglycemic and anti-inflammatory effects of standardized *Curcuma xanthorrhiza* roxb. extract and its active compound xanthorrhizol in high-fat diet-induced obese mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2014:205915.
- Korniluk, A., O. Koper, H. Kemono, dan V. Dymicka-Piekarska. 2017. From inflammation to cancer. *Irish Journal of Medical Science*. 186(1):57–62.
- Kumar, V., A. K. Abbas, J. C. Aster, dan A. T. Deyrup. 2020. *Robbins Essential Pathology*. Elsevier Health Sciences.
- Kuopakornpong, P., A. Itharat, S. Panthong, S. Sireeratawong, dan B. Ooraikul. 2020. In vitro and in vivo anti-inflammatory activities of benjakul: a potential medicinal product from thai traditional medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2020:9760948.
- Leelaprakash, G. dan S. M. Dass. 2011. In vitro anti-inflammatory activity of methanol extract of *Enicostemma axillare*. *International Journal of Drug Development and Research*. 3(3):189–196.
- Li, H., L. Liu, G. Gou, X. Xin, J. Li, dan H. A. Aisa. 2023. Guaianolides from *Achillea millefolium* L. and their anti-inflammatory activity. *Phytochemistry*. 210:113647.
- Lippiello, L., J. V Nardo, R. Harlan, dan T. Chiou. 2008. Metabolic effects of

avocado/soy unsaponifiables on articular chondrocytes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 5(2):191–197.

Malinauskas, R. A. 1997. Plasma hemoglobin measurement techniques for the in vitro evaluation of blood damage caused by medical devices. *Artificial Organs*. 21(12):1255–1267.

Marrassini, C., I. Peralta, dan C. Anesini. 2018. Comparative study of the polyphenol content-related anti-inflammatory and antioxidant activities of two *Urera aurantiaca* specimens from different geographical areas. *Chinese Medicine*. 13(1):22.

Meeran, M. F. N., G. S. Jagadeesh, dan P. Selvaraj. 2015. Thymol attenuates inflammation in isoproterenol induced myocardial infarcted rats by inhibiting the release of lysosomal enzymes and downregulating the expressions of proinflammatory cytokines. *European Journal of Pharmacology*. 754:153–161.

Mulyani, H., S. H. Widyastuti, dan V. I. Ekowati. 2016. Tumbuhan herbal sebagai jamu pengobatan tradisional terhadap penyakit dalam serat primbon jampi jawi jilid i. *Jurnal Penelitian Humaniora*. 21(2):73–91.

Munn, L. L. 2017. Cancer and inflammation. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*. 9(2)

Murwanti, R., R. D. Pratiwi, dan A. P. Gani. 2023. Association of *Zingiber aromaticum* vaal. with zerumbone and its biological activity: a literature review. *Jurnal Profesi Medika: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*. 17(1):68–77.

Nampoothiri, S., T. Esakkidurai, dan K. Pitchumani. 2017. Evaluation of antidiabetic, anti-inflammatory and ldl oxidation inhibitory potential of *Alpinia galanga* and *Alpinia calcarata* -an in vitro study. *Trends in Phytochemical Research*. 1(4):227–234.

Nonoyama, A. 2004. Using Multiwavelength UV-Visible Spectroscopy for the Characterization of Red Blood Cells: An Investigation of Hypochromism. University of South Florida.

Opie, E. L. 1962. On the relation of necrosis and inflammation to denaturation of proteins. *The Journal of Experimental Medicine*. 115(3):597.

Oyedapo, O. O., B. A. Akinpelu, K. F. Akinwunmi, M. O. Adeyinka, dan F. O. Sipeolu. 2010. Red blood cell membrane stabilizing potentials of extracts of *Lantana camara* and its fractions. *International Journal of Plant Physiology*

and *Biochemistry*. 2(4):46–51.

Oyeleke, S. A., A. M. Ajayi, S. Umukoro, A. O. Aderibigbe, dan O. G. Ademowo. 2018. Anti-inflammatory activity of *Theobroma cacao* L. stem bark ethanol extract and its fractions in experimental models. *Journal of Ethnopharmacology*. 222:239–248.

Panche, A. N., A. D. Diwan, dan S. R. Chandra. 2016. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*. 5:e47.

Pengpid, S. dan K. Peltzer. 2018. Utilization of traditional and complementary medicine in indonesia: results of a national survey in 2014–15. *Complementary Therapies in Clinical Practice*. 33:156–163.

Phitak, T., K. Choocheep, P. Pothacharoen, W. Pompimon, B. Premanode, dan P. Kongtawelert. 2009. The effects of p-hydroxycinnamaldehyde from *Alpinia galanga* extracts on human chondrocytes. *Phytochemistry*. 70(2):237–243.

Pratiwi, R. A. dan A. B. D. Nandiyanto. 2021. How to read and interpret UV-Vis spectrophotometric results in determining the structure of chemical compounds. *Indonesian Journal of Educational Research and Technology*. 2(1):1–20.

Purwaningsih, E. H. 2013. Jamu, obat tradisional asli indonesia: pasang surut pemanfaatannya di indonesia. *EJournal Kedokteran Indonesia*. 1(2):85–89.

Riyanti, G. R. 2015. *Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Jahe (Zingiber officinale) terhadap Tikus Putih Jantan (Rattus Novergicus)*. Universitas Sebelas Maret

Serhan, C. N., P. A. Ward, dan D. W. Gilroy. 2010. *Fundamentals of Inflammation*. Cambridge University Press.

Shrivastava, P., K. Vaibhav, R. Tabassum, A. Khan, T. Ishrat, M. M. Khan, A. Ahmad, Farah Islam, M. M. Safhi, dan Fakhrul Islam. 2013. Anti-apoptotic and anti-inflammatory effect of piperine on 6-ohda induced parkinson's rat model. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 24(4):680–687.

Siswanto, S. 2012. Saintifikasi jamu sebagai upaya terobosan untuk mendapatkan bukti ilmiah tentang manfaat dan keamanan jamu. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*. 15(2):21344.

Skoutakis, V. A., C. A. Carter, T. R. Mickle, V. H. Smith, C. R. Arkin, J. Alissandratos, dan D. E. Petty. 1988. Review of diclofenac and evaluation of

its place in therapy as a nonsteroidal antiinflammatory agent. *Drug Intelligence & Clinical Pharmacy*. 22(11):850–859.

Souto, A. L., J. F. Tavares, M. S. Da Silva, M. de F. F. M. Diniz, P. F. de Athayde-Filho, dan J. M. B. Filho. 2011. Anti-inflammatory activity of alkaloids: an update from 2000 to 2010. *Molecules*. 16(10):8515–8534.

Stahl-Meyer, J., K. Stahl-Meyer, dan M. Jäättelä. 2021. Control of mitosis, inflammation, and cell motility by limited leakage of lysosomes. *Current Opinion in Cell Biology*. 71:29–37.

Stevens, C. W. 2022. *Brenner and Stevens' Pharmacology*. Edisi 6. Elsevier Health Sciences.

Subash, K. R., G. B. Prakash, K. V. C. Reddy, K. Manjunath, dan K. U. Rao. 2016. Anti-inflammatory activity of ethanolic extract of *Alpinia galanga* in carrageenan induced pleurisy rats. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*. 6(5):468.

Surh, J. dan J.-M. Yun. 2012. Antioxidant and anti-inflammatory activities of butanol extract of *Melaleuca leucadendron* L. *Preventive Nutrition and Food Science*. 17(1):22–28.

Syafitri, M. H. 2018. Efek Buah Cabe Jawa terhadap Penurunan Edema Kaki pada Mencit yang Diinduksi Formalin. *The 3rd Science & Pharmacy Conference Dengan Tema Perkembangan IPTEK Untuk Mewujudkan Gerakan Masyarakat Sehat*. 2018. Graniti: 29–33.

Syahrir, N. H. A., F. M. Afendi, dan B. Susetyo. 2016. Efek sinergis bahan aktif tanaman obat berbasis jejeran dengan protein target. *Jurnal Jamu Indonesia*. 1(1):35–46.

Tasleem, F., I. Azhar, S. N. Ali, S. Perveen, dan Z. A. Mahmood. 2014. Analgesic and anti-inflammatory activities of *Piper nigrum* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 7:S461–S468.

Umopathy, E., E. J. Ndebia, A. Meeme, B. Adam, P. Menziwa, B. N. Nkeh-Chungag, dan J. E. Iputo. 2010. An experimental evaluation of *Albuca setosa* aqueous extract on membrane stabilization, protein denaturation and white blood cell migration during acute inflammation. *J Med Plants Res*. 4(9):789–795.

Warsidah, D. Fadly, dan Bohari. 2020. Antibacterial and anti-inflammatory activities of ethanol extract obtained from the hooks of *Uncaria tomentosa* (wild. ex schult) dc originated kalimantan, indonesia. *Systematic Reviews in*

Pharmacy. 11(7):65–70.

WHO. 2022. *Regional Framework for Harnessing Traditional and Complementary Medicine for Achieving Health and Wellbeing in the Western Pacific*. WHO.



LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Surat Etika Penelitian

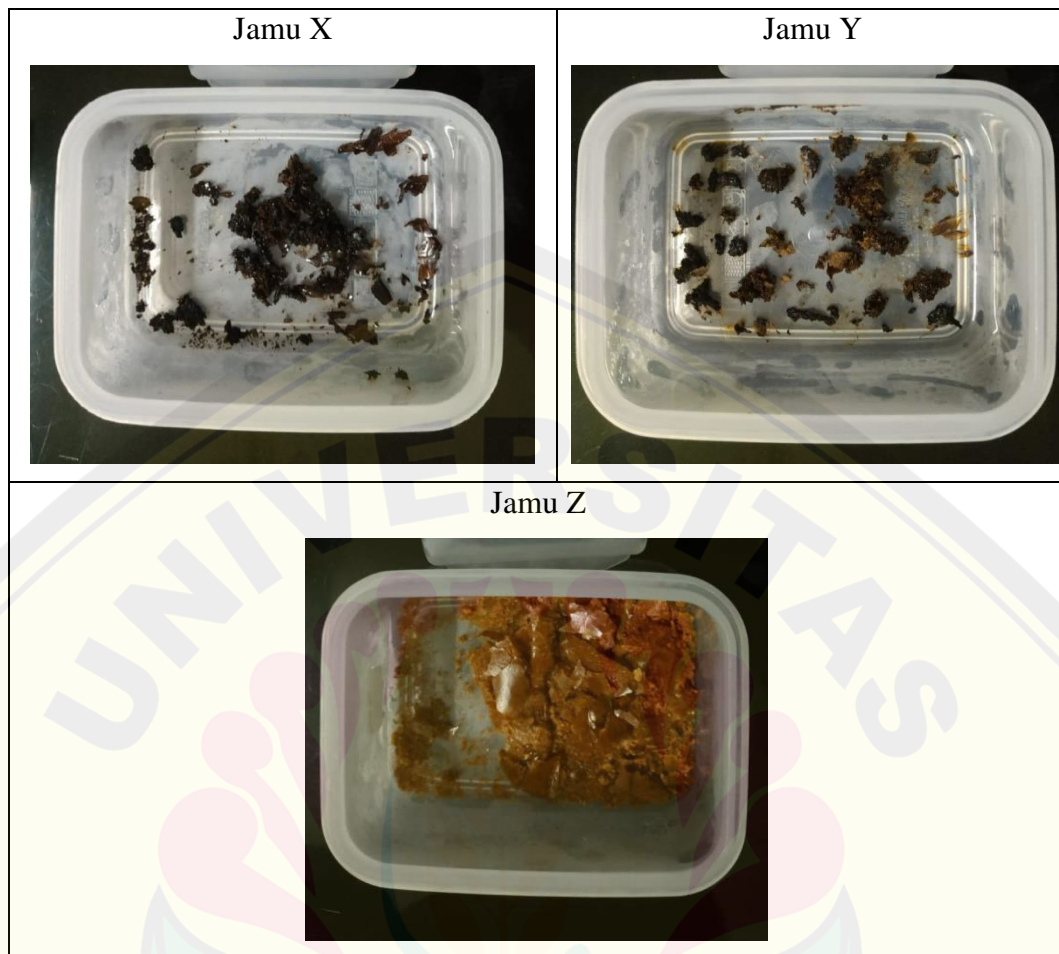
	KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)	
	FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER <i>(THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH</i> <i>FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITY OF JEMBER)</i>	
<u>No.1749/UN25.8/KEPK/DL/2022</u>		
Title of research protocol :	" In vitro Anti inflammatory activity of jamu extract (Indonesian traditional medicine) from various brands"	
Document Approved :	Research Protocol	
Principal investigator :	apt. Endah Puspitasari., S.Farm., M.Sc	
Member of research :	1.Putri Dwi Apriliani 192210101015 2.Asri Kusuma Wardani 192210101082	
Physician :	apt. Endah Puspitasari., S.Farm., M.Sc	
Date of approval :	November 2022 - selesai	
Place of research :	Fakultas Farmasi Universitas Jember	
<p>The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry University of Jember States That the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.</p> <p style="text-align: right;">Jember, Nopember 10th 2022</p> <p style="text-align: right;">Chairperson of Research Ethics Committee Faculty of Dentistry University of Jember</p> <div style="text-align: right;">   (Prof. Dr. Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si.) </div>		

Lampiran 4.1 Proses Ekstraksi, Hasil Ekstraksi, dan Rendemen Hasil

4.1.1. Proses Ekstraksi



4.1.2. Hasil Ekstraksi



4.1.3. Perhitungan Rendemen

Jamu	Bobot Ekstrak (g)	Bobot Serbuk (g)	% Rendemen
X	6,048	64,093	9,436
Y	5,621	56,796	9,897
Z	7,049	75,072	9,390

Lampiran 4.2 Uji Aktivitas Antiinflamasi *In Vitro* Metode Stabilisasi Membran Sel Darah Merah

4.2.1. Konsentrasi Natrium Diklofenak

$$\text{Konsentrasi awal} = \frac{\text{volume pemipetan}}{\text{volume total larutan}} \times \text{konsentrasi 1 (larutan induk)}$$

$$\text{Konsentrasi akhir} = \frac{\text{volume pemipetan}}{\text{volume total larutan}} \times \text{konsentrasi awal}$$

$$\text{Konsentrasi 1} = \frac{50 \text{ mg}}{50 \text{ mL}} = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 222 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 2} = \frac{8 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 800 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 800 \text{ } \mu\text{g/mL} = 178 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 3} = \frac{6 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 600 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 600 \text{ } \mu\text{g/mL} = 133 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 4} = \frac{4 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 400 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 400 \text{ } \mu\text{g/mL} = 88,9 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 5} = \frac{2 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 200 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 44,4 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

4.2.2. Konsentrasi Ekstrak Jamu Merek X

$$\text{Konsentrasi 1} = \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 222 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 2} = \frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 444 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 3} = \frac{30 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = 3000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 3000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 667 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 4} = \frac{40 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = 4000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 4000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 889 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 5} = \frac{50 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = 5000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 5000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 1110 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

4.2.3. Konsentrasi Ekstrak Jamu Merek Y

$$\text{Konsentrasi 1} = \frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 222 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 2} = \frac{30 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = 3000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 3000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 333 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 3} = \frac{50 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = 5000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 5000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 556 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 4} = \frac{80 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = 8000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 8000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 889 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 5} = \frac{12 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = 12000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 12000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 1330 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

4.2.4. Konsentrasi Ekstrak Jamu Merek Z

$$\text{Konsentrasi 1} = \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 222 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

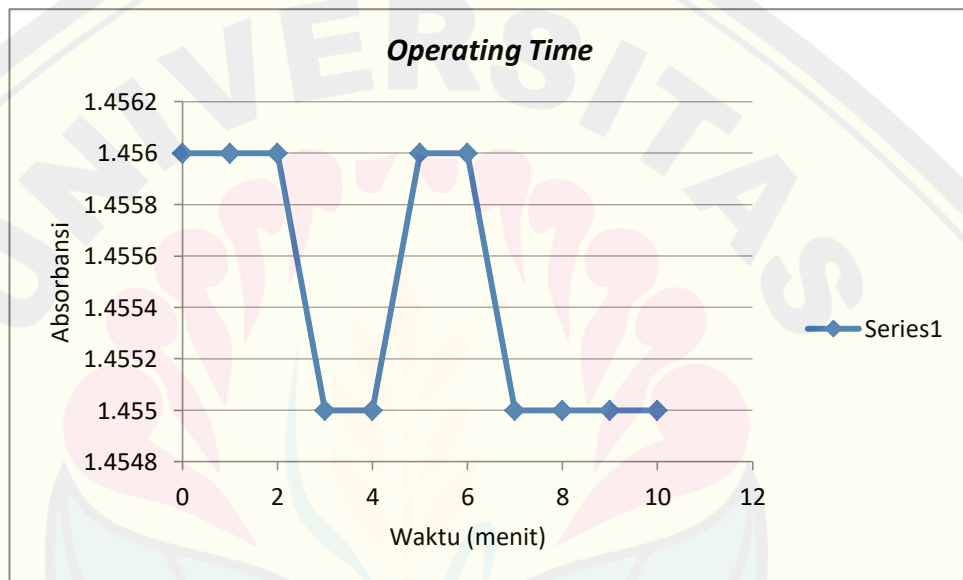
$$\text{Konsentrasi 2} = \frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 444 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 3} = \frac{30 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = 3000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 3000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 667 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 4} = \frac{40 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = 4000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 4000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 889 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 5} = \frac{50 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = 5000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{1 \text{ mL}}{4,5 \text{ mL}} \times 5000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 1110 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

4.2.5. Data Operating Time



4.2.6. Data Perhitungan Stabilisasi Membran Sel Darah Merah**Jamu Merek X**

Konsentrasi (µg/mL)	Replikasi	Absorbansi	Absorbansi KU	Absorbansi KN	% Stabilisasi	Rerata ± SD
222	1	1,954	0,035	2,351	18,375	15,401 ± 6,444
	2	1,917	0,032	2,351	19,821	
	3	2,054	0,032	2,198	8,007	
444	1	1,753	0,051	2,351	27,605	29,351 ± 2,425
	2	1,737	0,052	2,351	28,328	
	3	1,547	0,055	2,198	32,120	
667	1	1,336	0,073	2,351	46,278	46,900 ± 2,440
	2	1,388	0,091	2,351	44,832	
	3	1,183	0,075	2,198	49,591	
889	1	1,246	0,087	2,351	50,702	54,362 ± 5,139
	2	1,228	0,103	2,351	52,148	
	3	0,977	0,103	2,198	60,237	
1110	1	0,817	0,120	2,351	70,353	69,000 ± 1,773
	2	0,895	0,119	2,351	66,993	
	3	0,786	0,119	2,198	69,654	

Jamu Merek Y

Konsentrasi (µg/mL)	Replikasi	Absorbansi	Absorbansi KU	Absorbansi KN	% Stabilisasi	Rerata ± SD
222	1	2,187	0,028	2,250	4,044	7,019 ± 3,112
	2	2,126	0,030	2,248	6,762	
	3	2,164	0,028	2,380	10,252	
333	1	1,959	0,035	2,250	14,489	15,688 ± 1,372
	2	1,940	0,038	2,248	15,391	
	3	2,008	0,037	2,380	17,185	
556	1	1,409	0,057	2,250	39,911	34,786 ± 4,444
	2	1,575	0,056	2,248	32,429	
	3	1,679	0,061	2,380	32,017	
889	1	0,947	0,082	2,250	61,556	57,459 ± 3,562
	2	1,084	0,089	2,248	55,738	
	3	1,158	0,089	2,380	55,084	
1330	1	0,553	0,131	2,250	81,244	78,709 ± 2,669
	2	0,588	0,115	2,248	78,959	
	3	0,685	0,112	2,380	75,924	

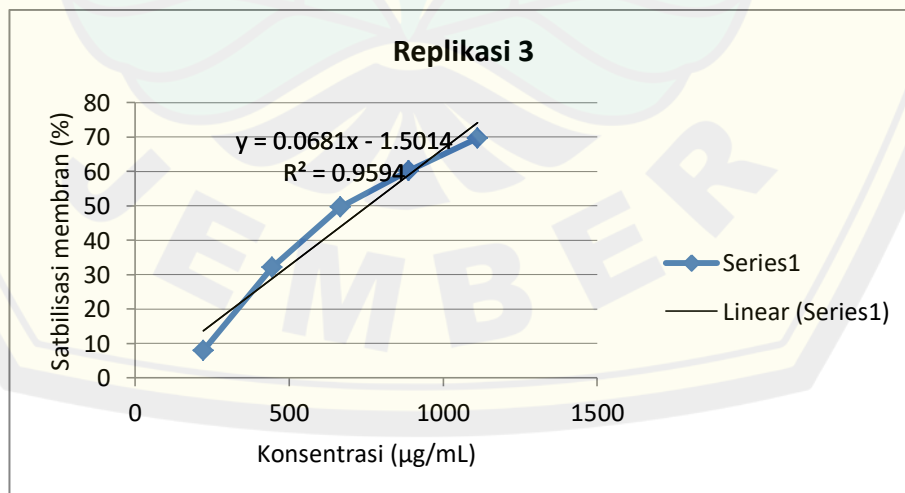
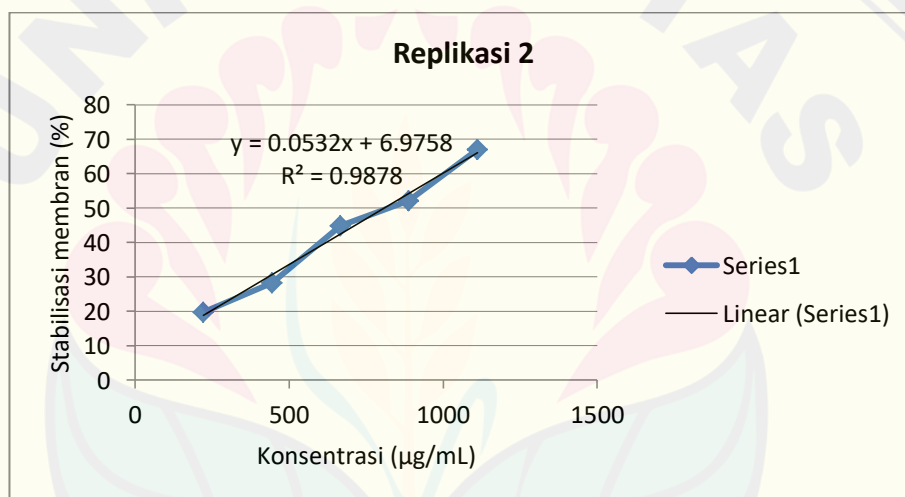
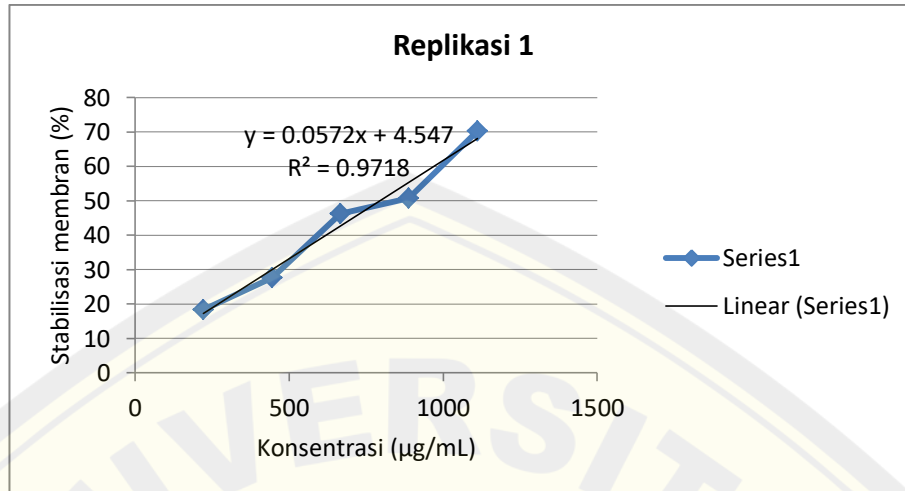
Jamu Merek Z

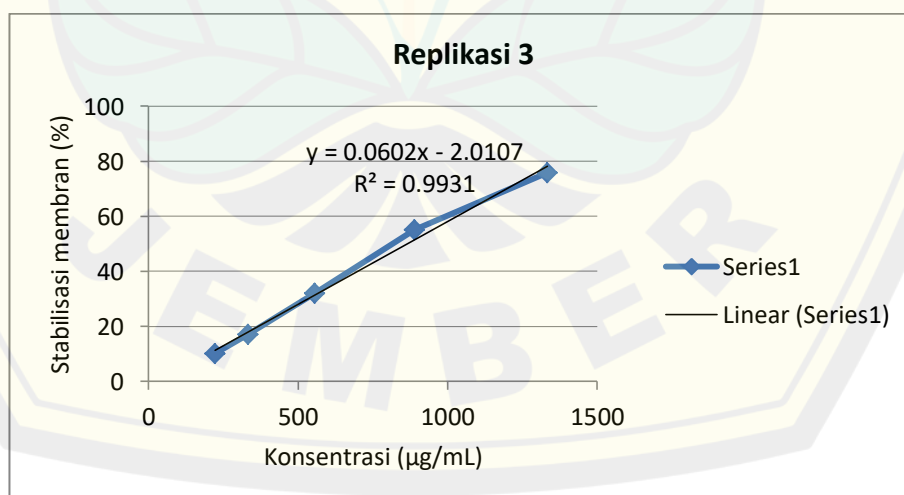
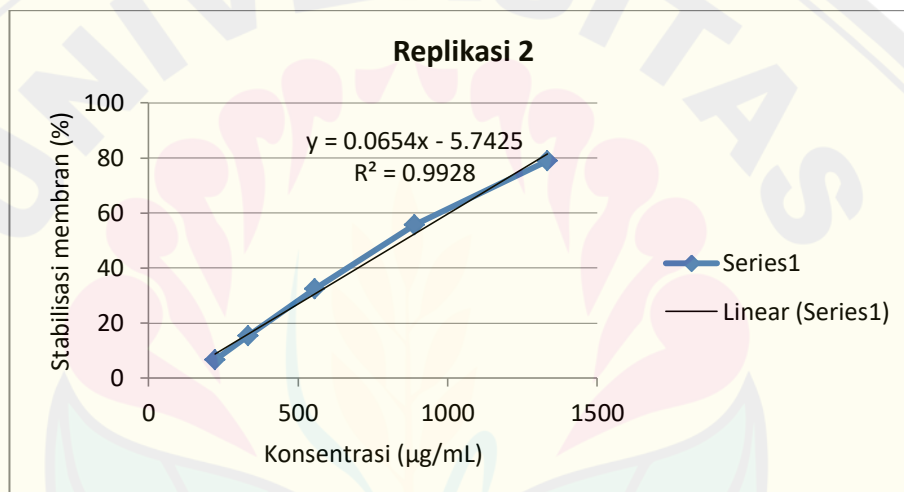
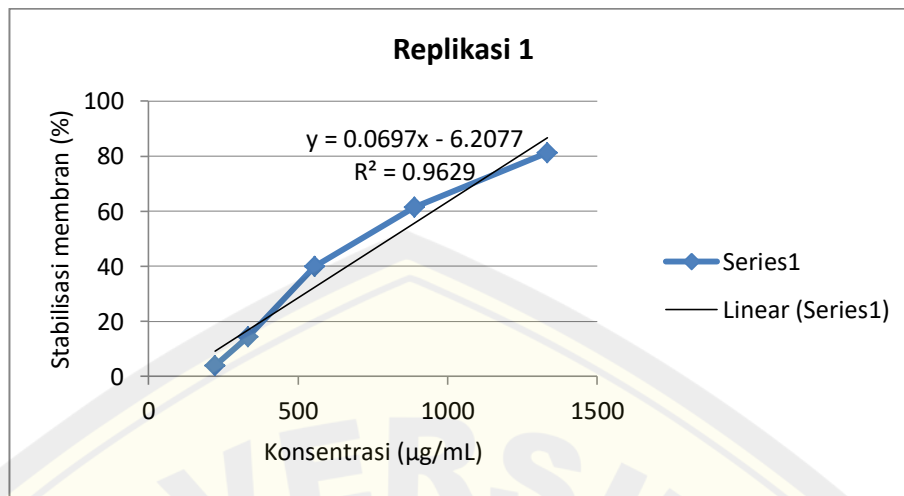
Konsentrasi (µg/mL)	Replikasi	Absorbansi	Absorbansi KU	Absorbansi KN	% Stabilisasi	Rerata ± SD
222	1	2,137	0,019	2,247	5,741	6,957 ± 4,128
	2	2,177	0,018	2,239	3,573	
	3	2,206	0,017	2,475	11,556	
444	1	1,768	0,036	2,247	22,919	23,036 ± 1,838
	2	1,794	0,031	2,239	21,259	
	3	1,896	0,038	2,475	24,929	
667	1	1,511	0,057	2,247	35,291	33,729 ± 1,396
	2	1,559	0,050	2,239	32,604	
	3	1,698	0,047	2,475	33,293	
889	1	1,215	0,071	2,247	49,088	45,647 ± 3,486
	2	1,363	0,067	2,239	42,117	
	3	1,408	0,065	2,475	45,737	
1110	1	1,006	0,087	2,247	59,101	57,809 ± 1,585
	2	1,017	0,083	2,239	58,285	
	3	1,167	0,079	2,475	56,040	

Kontrol Positif Natrium Diklofenak

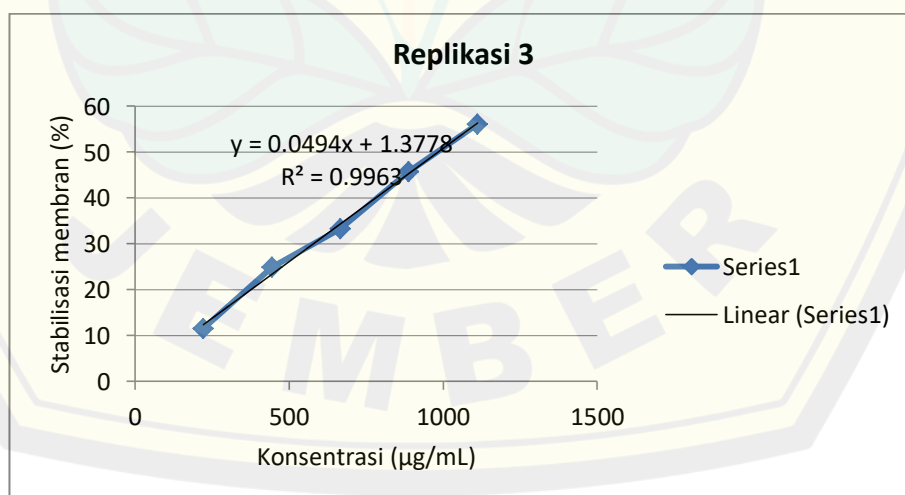
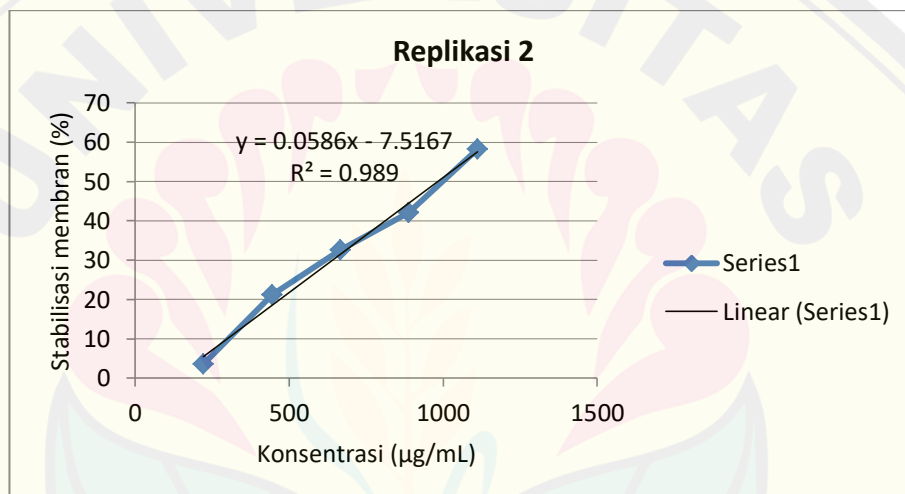
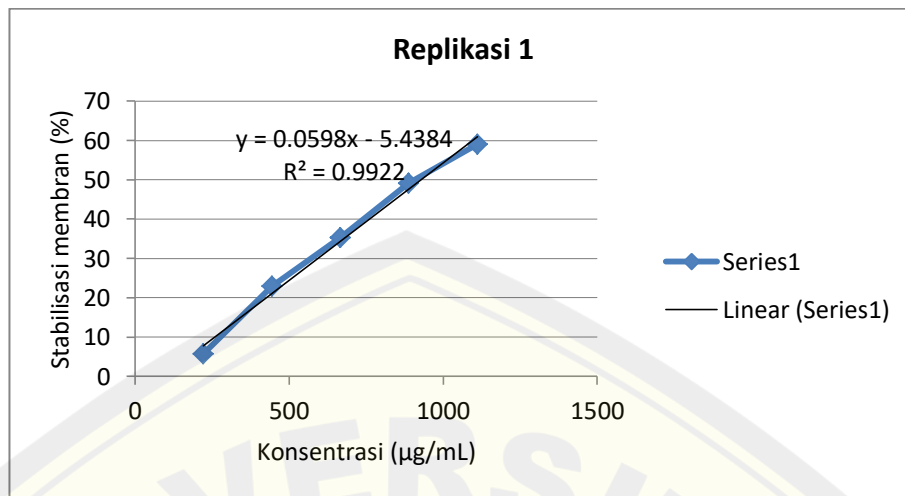
Konsentrasi (µg/mL)	Replikasi	Absorbansi	Absorbansi KU	Absorbansi KN	% Stabilisasi	Rerata ± SD
222	1	0,164	0,093	2,716	97,386	95,907 ± 1,560
	2	0,187	0,018	2,953	94,277	
	3	0,201	0,087	2,893	96,059	
178	1	0,381	0,084	2,716	89,065	85,950 ± 3,802
	2	0,571	0,031	2,953	81,714	
	3	0,453	0,079	2,893	87,072	
133	1	0,977	0,061	2,716	66,274	63,784 ± 2,779
	2	1,208	0,050	2,953	60,786	
	3	1,103	0,070	2,893	64,293	
88.9	1	1,753	0,057	2,716	37,555	36,452 ± 1,499
	2	1,994	0,067	2,953	34,744	
	3	1,872	0,051	2,893	37,055	
44.4	1	2,030	0,035	2,716	26,546	27,249 ± 1,014
	2	2,197	0,083	2,953	28,412	
	3	2,155	0,037	2,893	26,789	

**4.2.7. Kurva Konsentrasi (X) dan Stabilisasi Membran Sel Darah Merah (Y)
Ekstrak Jamu Merek X**

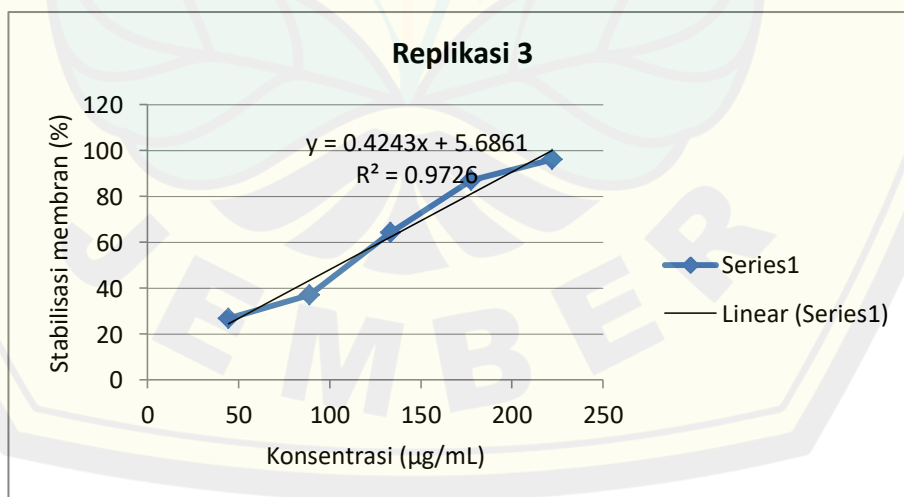
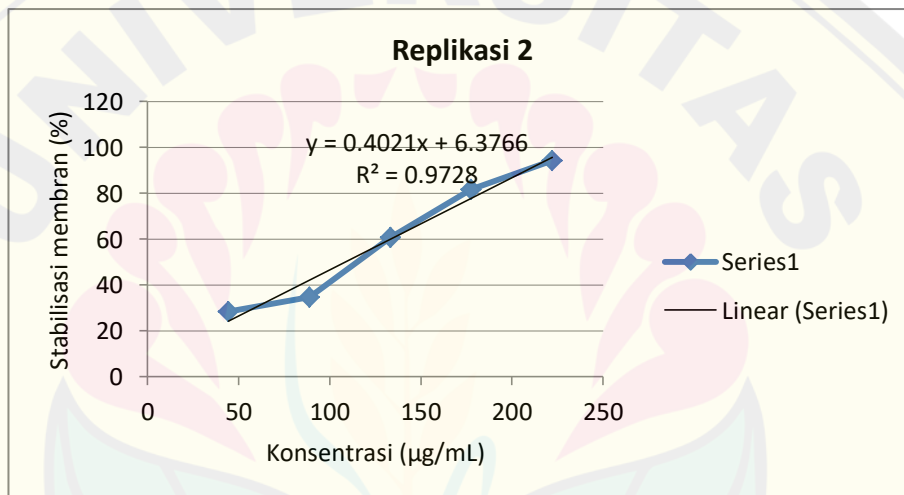
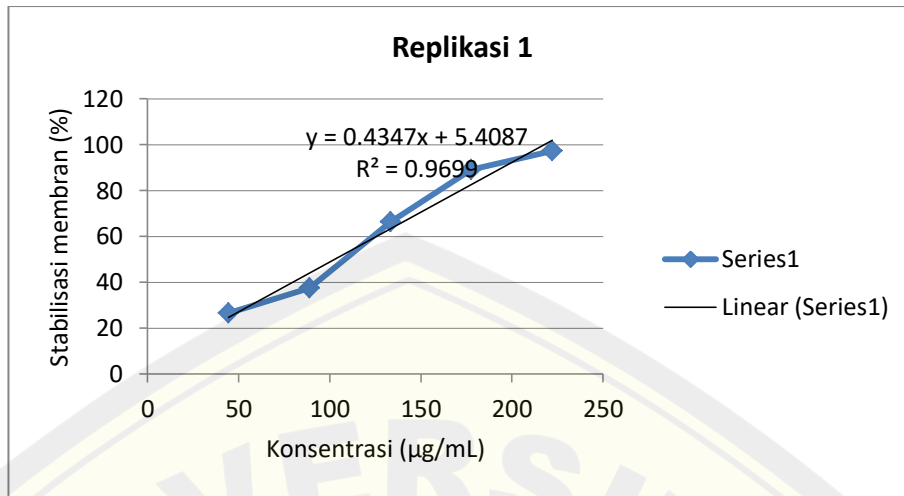


Ekstrak Jamu Merek Y

Ekstrak Jamu Merek Z



Kontrol Positif Natrium Diklofenak



4.2.8. Persamaan Regresi dan Nilai IC₅₀

Sampel	Persamaan regresi	Nilai R	IC ₅₀ (µg/mL)	Rerata IC ₅₀ ± SD
Jamu X	$y = 0,0572x + 4,5470$	0,986	794,633	786,540 ± 27,152
	$y = 0,0532x + 6,9758$	0,994	808,725	
	$y = 0,0681x - 1,5014$	0,979	756,261	
Jamu Y	$y = 0,0697x - 6,2077$	0,981	806,423	840,907 ± 30,425
	$y = 0,0654x - 5,7425$	0,996	852,332	
	$y = 0,0602x - 2,0107$	0,997	863,965	
Jamu Z	$y = 0,0598x - 5,4384$	0,996	927,063	964,277 ± 32,258
	$y = 0,0586x - 7,5167$	0,995	981,514	
	$y = 0,0949x + 1,3778$	0,998	984,255	
Kontrol positif	$y = 0,4347x + 5,4087$	0,985	102,579	105,169 ± 3,022
	$y = 0,4021x + 6,3766$	0,986	108,489	
	$y = 0,4243x + 5,6861$	0,986	104,440	

4.2.9. Analisis Statistik

Uji Normalitas

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
Sampel		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50	Jamu X	.284	3		.933	3	.501
	Jamu Y	.313	3		.894	3	.367
	Jamu Z	.370	3		.786	3	.081

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
IC50					
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
	.130	2	6	.881	

Uji One-Way ANOVA

ANOVA					
IC50					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	49766.770	2	24883.385	27.613	.001
Within Groups	5406.953	6	901.159		
Total	55173.724	8			

Uji Post Hoc LSD

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: IC50						
LSD						
(I) Sampel		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Jamu X	Jamu Y	-54.367000	24.510663	.068	-145.23852	36.50452
	Jamu Z	-177.737667*	24.510663	.000	-268.60919	-86.86615
Jamu Y	Jamu X	54.367000	24.510663	.068	-36.50452	145.23852
	Jamu Z	-123.370667*	24.510663	.002	-214.24219	-32.49915
Jamu Z	Jamu X	177.737667*	24.510663	.000	86.86615	268.60919
	Jamu Y	123.370667*	24.510663	.002	32.49915	214.24219

*. The mean difference is significant at the 0.01 level.

Lampiran 4.3 Uji Aktivitas Antiinflamasi *In Vitro* Metode Inhibisi Denaturasi Protein

4.3.1. Konsentrasi Natrium Diklofenak

$$\text{Konsentrasi 1} = \frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 10 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 2} = \frac{4 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 800 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 800 \text{ } \mu\text{g/mL} = 8 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 3} = \frac{3 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 600 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 600 \text{ } \mu\text{g/mL} = 6 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 4} = \frac{2 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 400 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 400 \text{ } \mu\text{g/mL} = 4 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 5} = \frac{1 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 200 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 200 \text{ } \mu\text{g/mL} = 2 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

4.3.2. Konsentrasi Ekstrak Jamu Merek X

$$\text{Konsentrasi 1} = \frac{10 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} = 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 20 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 2} = \frac{20 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} = 4000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 4000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 40 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 3} = \frac{30 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} = 6000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 6000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 60 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 4} = \frac{40 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} = 8000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 8000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 80 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 5} = \frac{50 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} = 10000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 10000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 100 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

4.3.3. Konsentrasi Ekstrak Jamu Merek Y

$$\text{Konsentrasi 1} = \frac{10 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} = 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 2000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 20 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 2} = \frac{15 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} = 3000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 3000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 30 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 3} = \frac{25 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} = 5000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 5000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 50 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 4} = \frac{40 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} = 8000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 8000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 80 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 5} = \frac{60 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} = 12000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 12000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 120 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

4.3.4. Konsentrasi Ekstrak Jamu Merek Z

$$\text{Konsentrasi 1} = \frac{27,5 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} = 5500 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 5500 \text{ } \mu\text{g/mL} = 55 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

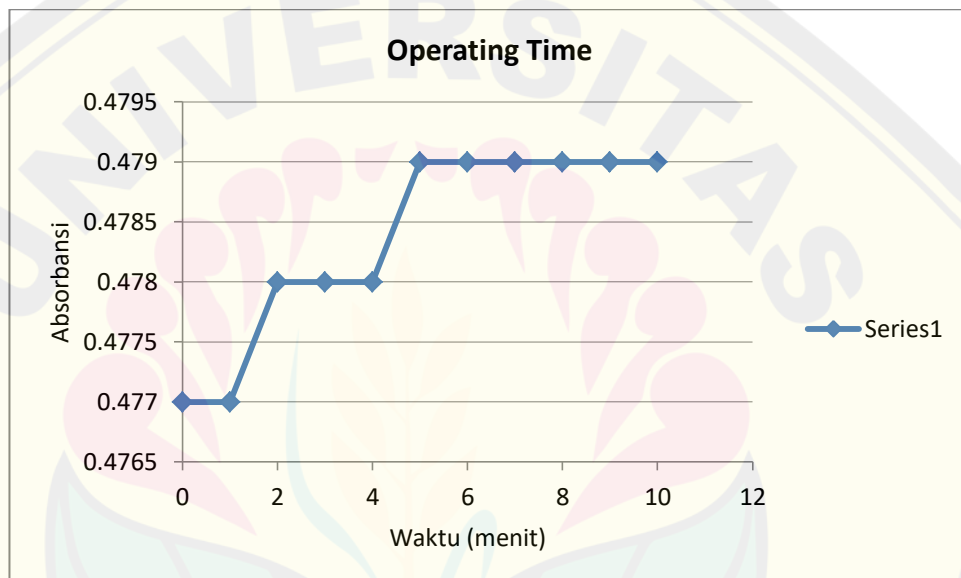
$$\text{Konsentrasi 2} = \frac{40 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} = 8000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 8000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 80 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 3} = \frac{52,5 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} = 10500 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 5000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 105 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 4} = \frac{65 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} = 13000 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 13000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 130 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi 5} = \frac{77,5 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} = 15500 \text{ } \mu\text{g/mL} \rightarrow \frac{5 \text{ } \mu\text{L}}{500 \text{ } \mu\text{L}} \times 15500 \text{ } \mu\text{g/mL} = 155 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

4.3.5. Data Operating Time



4.3.6. Data Perhitungan Inhibisi Denaturasi Protein

Jamu Merek X

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Replikasi	Absorbansi	Absorbansi KN	% Inhibisi	Rerata \pm SD
20	1	0,813	0,996	18,373	25,791 \pm 6,590
	2	0,701	0,974	28,029	
	3	0,711	1,030	30,971	
40	1	0,722	0,996	27,510	34,468 \pm 6,106
	2	0,614	0,974	36,961	
	3	0,629	1,030	38,932	
60	1	0,616	0,996	38,153	43,374 \pm 4,594
	2	0,534	0,974	45,175	
	3	0,548	1,030	46,796	
80	1	0,473	0,996	52,510	50,498 \pm 1,770
	2	0,495	0,974	49,179	
	3	0,517	1,030	49,806	
100	1	0,357	0,996	64,157	60,445 \pm 3,223
	2	0,401	0,974	58,830	
	3	0,429	1,030	58,350	

Jamu Merek Y

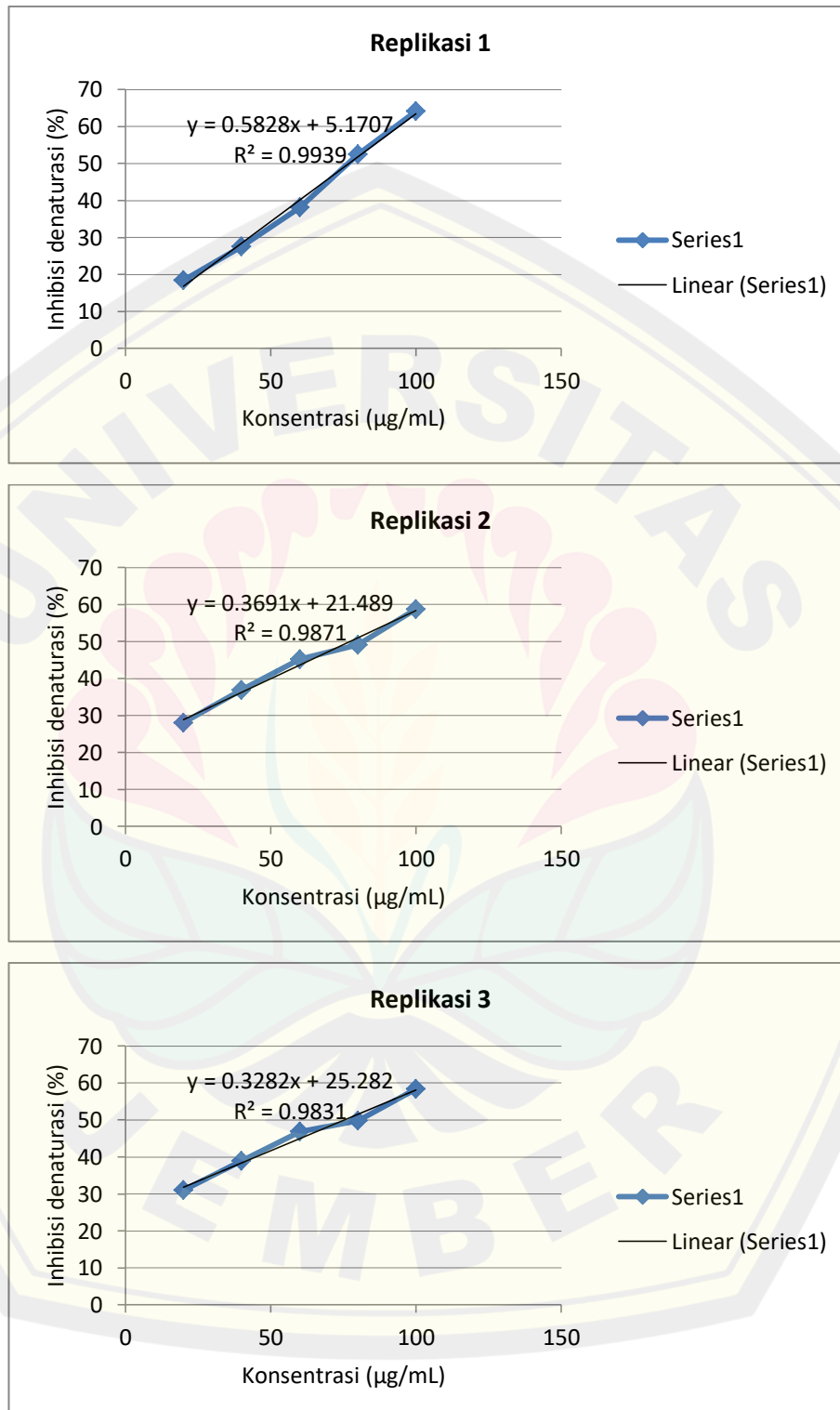
Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Replikasi	Absorbansi	Absorbansi KN	% Inhibisi	Rerata \pm SD
20	1	0,826	1,048	21,183	22,807 \pm 1,415
	2	0,858	1,121	23,461	
	3	0,872	1,144	23,776	
30	1	0,767	1,048	26,813	28,651 \pm 1,893
	2	0,801	1,121	28,546	
	3	0,794	1,144	30,594	
50	1	0,676	1,048	35,496	34,951 \pm 2,041
	2	0,710	1,121	36,664	
	3	0,770	1,144	32,692	
80	1	0,573	1,048	45,324	45,953 \pm 0,593
	2	0,605	1,121	46,030	
	3	0,612	1,144	46,503	
120	1	0,392	1,048	62,595	61,870 \pm 0,855
	2	0,425	1,121	62,087	
	3	0,447	1,144	60,927	

Jamu Merek Z

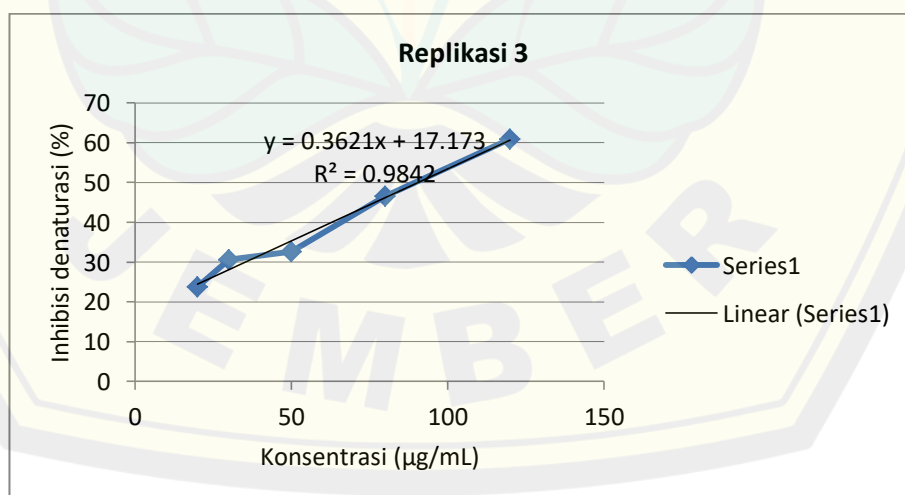
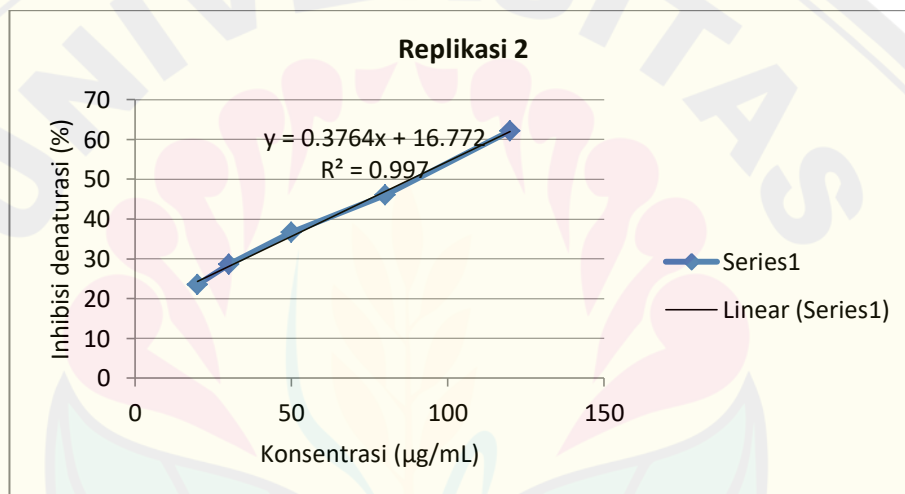
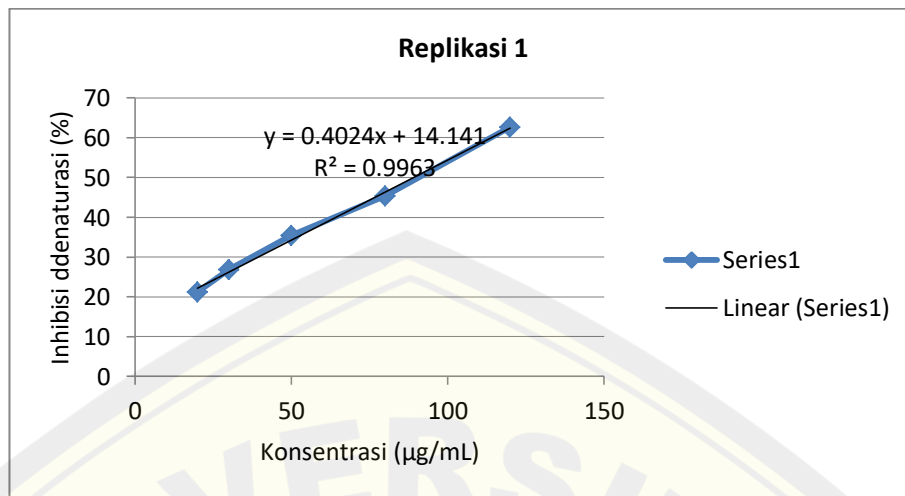
Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Replikasi	Absorbansi	Absorbansi KN	% Inhibisi	Rerata \pm SD
55	1	0,964	1,100	12,364	13,641 \pm 1,114
	2	0,980	1,145	14,410	
	3	0,995	1,159	14,150	
80	1	0,912	1,100	17,091	18,393 \pm 1,869
	2	0,944	1,145	17,555	
	3	0,921	1,159	20,535	
105	1	0,799	1,100	27,364	27,725 \pm 0,574
	2	0,831	1,145	27,424	
	3	0,830	1,159	28,387	
130	1	0,651	1,100	40,818	40,286 \pm 0,567
	2	0,683	1,145	40,349	
	3	0,699	1,159	39,689	
155	1	0,527	1,100	52,091	52,542 \pm 1,805
	2	0,561	1,145	51,004	
	3	0,527	1,159	54,530	

Kontrol Positif Natrium Diklofenak

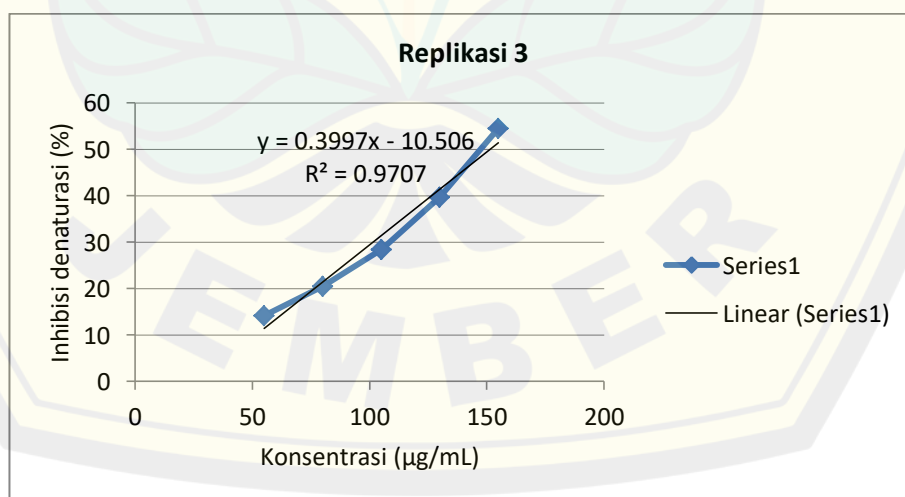
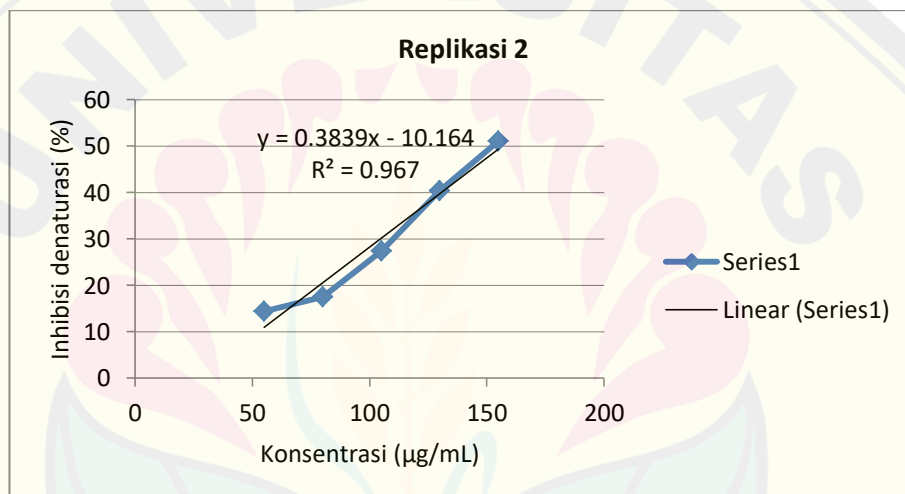
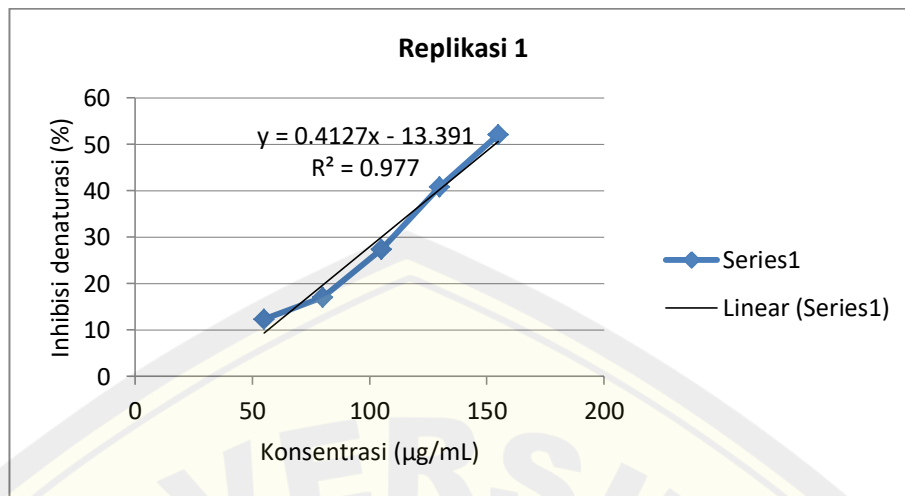
Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Replikasi	Absorbansi	Absorbansi KN	% Inhibisi	Rerata \pm SD
10	1	0,341	1,173	70,929	71,265 \pm 0,704
	2	0,354	1,212	70,792	
	3	0,358	1,282	72,075	
8	1	0,415	1,173	64,621	65,364 \pm 1,028
	2	0,425	1,212	64,934	
	3	0,429	1,282	66,537	
6	1	0,508	1,173	56,692	56,890 \pm 0,469
	2	0,516	1,212	57,426	
	3	0,557	1,282	56,552	
4	1	0,612	1,173	47,826	46,959 \pm 2,050
	2	0,625	1,212	48,432	
	3	0,710	1,282	44,618	
2	1	0,743	1,173	36,658	37,388 \pm 1,003
	2	0,745	1,212	38,531	
	3	0,808	1,282	36,973	

4.3.7. Kurva Konsentrasi (X) dan Inhibisi Denaturasi Protein (Y)**Ekstrak Jamu Merek X**

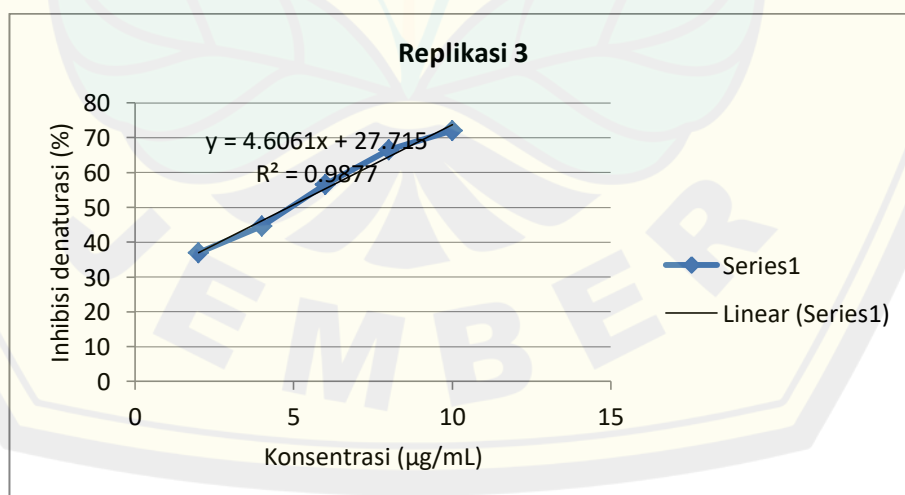
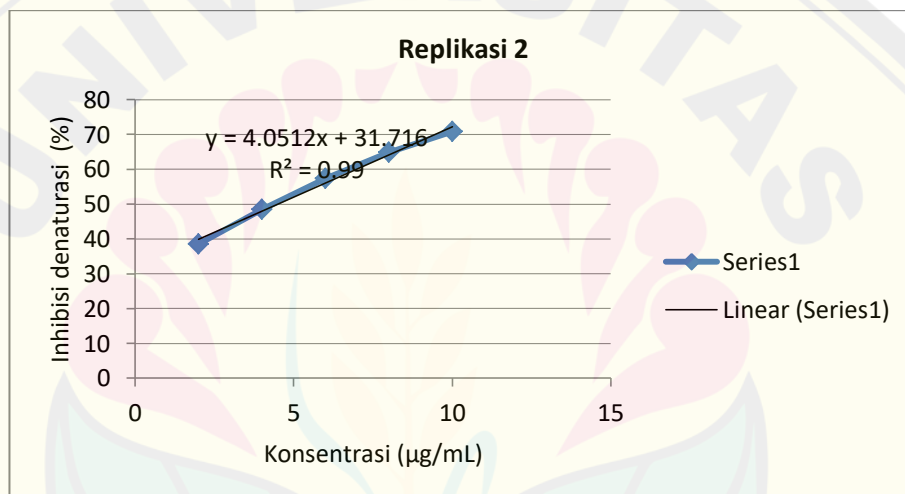
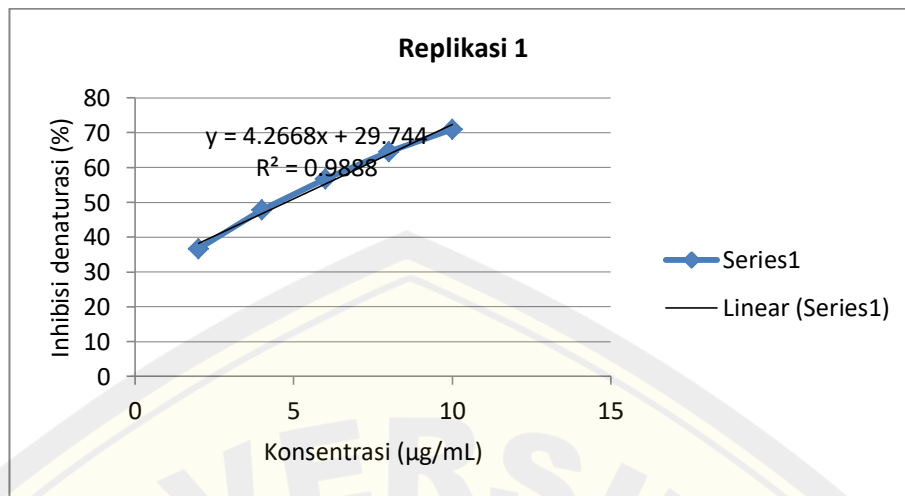
Ekstrak Jamu Merek Y



Ekstrak Jamu Merek Z



Kontrol Positif Natrium Diklofenak



4.3.8. Persamaan Regresi dan Nilai IC₅₀

Sampel	Persamaan regresi	Nilai R	IC ₅₀ (µg/mL)	Rerata IC ₅₀ ± SD
Jamu X	$y = 0,5828x + 5,171$	0,997	76,921	76,493 ± 1,034
	$y = 0,3691x + 21,489$	0,993	77,245	
	$y = 0,3282x + 25,282$	0,991	75,314	
Jamu Y	$y = 0,4024x + 14,141$	0,998	89,113	89,349 ± 1,207
	$y = 0,3764x + 16,772$	0,998	88,278	
	$y = 0,3621x + 17,173$	0,992	90,657	
Jamu Z	$y = 0,4127x - 13,391$	0,988	153,601	153,899 ± 2,682
	$y = 0,3839x - 10,164$	0,983	156,718	
	$y = 0,3997x - 10,506$	0,985	151,378	
Kontrol positif	$y = 4,2668x + 29,744$	0,994	4,747	4,749 ± 0,089
	$y = 4,0512x + 31,716$	0,995	4,661	
	$y = 4,6061x + 27,715$	0,994	4,838	

4.3.9. Analisis Statistik**Uji Normalitas**

Tests of Normality							
Sampel		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50	Jamu X	.327	3		.872	3	.300
	Jamu Y	.244	3		.971	3	.675
	Jamu Z	.211	3		.991	3	.816

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances				
IC50	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	1.411	2	6	.315

Uji One-Way ANOVA

ANOVA					
IC50					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10323.573	2	5161.787	1592.871	.000
Within Groups	19.443	6	3.241		
Total	10343.017	8			



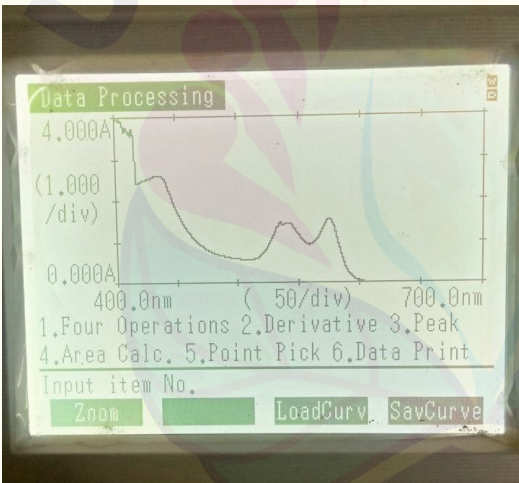
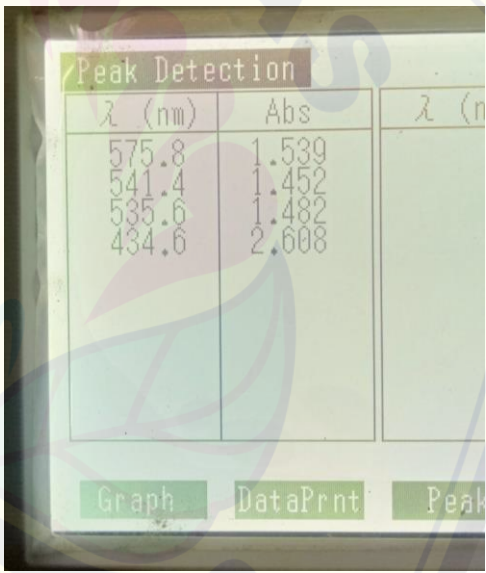

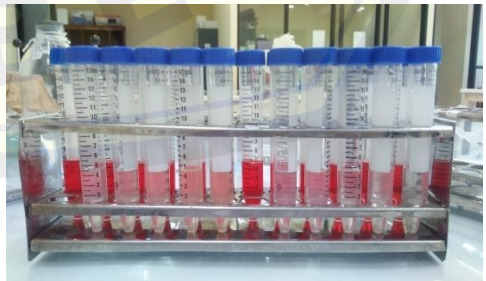
Uji Post Hoc LSD

Multiple Comparisons						
Dependent Variable:		IC50				
LSD						
(I) Sampel		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Jamu X	Jamu Y	-12.856000*	1.469820	.000	-18.30525	-7.40675
	Jamu Z	-77.405667*	1.469820	.000	-82.85492	-71.95642
Jamu Y	Jamu X	12.856000*	1.469820	.000	7.40675	18.30525
	Jamu Z	-64.549667*	1.469820	.000	-69.99892	-59.10042
Jamu Z	Jamu X	77.405667*	1.469820	.000	71.95642	82.85492
	Jamu Y	64.549667*	1.469820	.000	59.10042	69.99892

*. The mean difference is significant at the 0.01 level.

Lampiran 4.4 Dokumentasi Penelitian

4.4.1. Metode Stabilisasi Membran Sel Darah Merah

<p style="text-align: center;">Darah kelinci</p> 	<p style="text-align: center;">Suspensi sel darah merah 10%</p> 															
<p style="text-align: center;">Spektra hasil pembacaan serapan pada panjang gelombang 400-700 nm</p> 	<p style="text-align: center;">Deteksi puncak serapan hemoglobin</p>  <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th>λ (nm)</th> <th>Abs</th> <th>λ (nm)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>575.8</td> <td>1.539</td> <td></td> </tr> <tr> <td>541.4</td> <td>1.452</td> <td></td> </tr> <tr> <td>535.6</td> <td>1.482</td> <td></td> </tr> <tr> <td>434.6</td> <td>2.608</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	λ (nm)	Abs	λ (nm)	575.8	1.539		541.4	1.452		535.6	1.482		434.6	2.608	
λ (nm)	Abs	λ (nm)														
575.8	1.539															
541.4	1.452															
535.6	1.482															
434.6	2.608															
<p style="text-align: center;">Larutan ekstrak jamu merek X, Y, dan Z</p> 	<p style="text-align: center;">Preparasi larutan uji, kontrol uji, dan kontrol negatif</p> 															

Setelah proses inkubasi



Proses sentrifugasi



Spektrofotometer UV-Vis



Proses pembacaan absorbansi



4.4.2. Metode Inhibisi Denaturasi Protein

