

Uji Aktivitas Antiinflamasi *In Vitro* *Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith dengan Metode Stabilisasi Membran Sel Darah Merah

(In Vitro Antiinflammatory Activity of *Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith by Hrbc Membrane Stabilization Method)

ADRYAN FRISTIOHADY^{1*}, WAHYUNI¹, FADHLIYAH MALIK¹, NURJEDDAH FARIANE¹, MUHAMMAD ILYAS Y^{1,2}, MENTARRY BAFADAL¹, SAHIDIN I¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo, Kendari 93232, Sulawesi Tenggara, Indonesia

²Program Studi DIII Analis Kesehatan, Politeknik Bina Husada Kendari, Kendari 93232, Sulawesi Tenggara, Indonesia

Diterima: 11 Juni 2019, Disetujui: 27 September 2020

Abstrak: *Wualae* (*Etilingera elatior* (Jack) R. M. Smith) merupakan tanaman yang sering dimanfaatkan sebagai obat tradisional di Sulawesi Tenggara. Buah *wualae* mengandung flavonoid, tanin, dan terpenoid yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol buah *wualae* dengan metode stabilisasi membran sel darah merah. Kontrol positif yang digunakan adalah natrium diklofenak dengan dengan berbagai variasi konsentrasi yaitu 250 ppm; 500 ppm; 750 ppm; 1000 ppm; 1250 ppm; dan 1500 ppm. Sampel juga memiliki variasi konsentrasi yang sama. Dari hasil penentuan aktivitas antiinflamasi sampel didapatkan hasil sebagai persentase stabilitas dan hemolisis ekstrak etanol buah *wualae* terhadap membran sel darah merah 57,75% dan 42,25% (250 ppm), 66,71% dan 33,29% (500 ppm), 74,10% dan 25,90% (750 ppm), 75,72% dan 24,28% (1000 ppm), 79,87% dan 20,13% (1250 ppm), dan 84,89% dan 15,11% (1500 ppm). Jika dibandingkan dengan persentase stabilitas dan hemolisis natrium diklofenak yaitu 62,61% dan 37,39% (250 ppm), 66,71% dan 33,29% (500 ppm), 71,02% dan 28,98% (750 ppm), 72,10% dan 27,90% (1000 ppm), 73,94% dan 26,06% (1250 ppm), 76,63% dan 23,37% (1500 ppm). Data ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah *wualae* berpotensi sebagai antiinflamasi karena memiliki persentase stabilitas dan hemolisis yang identik dengan kontrol positif.

Kata kunci: Antiinflamasi, *wualae*, membran sel darah merah.

Abstract: *Wualae* (*Etilingera elatior* (Jack) R. M. Smith) is plant that traditionally used as traditional medicine in Southeast Sulawesi. It contains flavonoids, tannins, and terpenoids that act as anti-inflammatory. The study aims to investigate the anti-inflammatory activity of ethanolic extract of *wualae* by stabilizing human red blood cell (HRBC) membrane. Hemolysis and stability due to oxidative induction and hypotonic solutes are used as measures of anti-inflammatory activity. The positive controls used in this study were diclofenac sodium with various concentrations of 250 ppm; 500 ppm; 750 ppm; 1000 ppm; 1250 ppm; and 1500 ppm. Sample was also having similar identical concentration. According to the results of stability and hemolysis percentage of *E. elatior* fruit ethanol extract to HRBC were 57,75% and 42,25% (250 ppm), 66,71% and 33,29% (500 ppm), 74,10% and 25,90% (750 ppm), 75,72% and 24,28% (1000 ppm), 79,87% and 20,13% (1250 ppm), and 84,89% and 15,11% (1500 ppm). Compared with diclofenac sodium stability and hemolysis percentage were 62,61% and 37,39% (250 ppm), 66,71% and 33,29% (500 ppm), 71,02% and 28,98% (750 ppm), 72,10% and 27,90% (1000 ppm), 73,94% and 26,06% (1250 ppm), 76,63% and 23,37% (1500 ppm). These data suggest that the ethanolic extract of *wualae* is potentially have activity as anti-inflammatory.

Keywords: Antiinflammatory, *wualae*, red blood cell membrane.

*Penulis korespondensi
email: adryanfristiohady@uho.ac.id

PENDAHULUAN

INDONESIA merupakan salah satu negara mega *bio-diversity* dengan jumlah tanaman obat sekitar 40.000 jenis, namun baru sekitar 2,5% yang telah dieksplorasi dan dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Tingginya nilai medis tumbuhan obat dan keanekaragaman tumbuhan di Indonesia menyebabkan ramuan herbal menjadi alternatif pengobatan mengingat efek samping dari ramuan herbal lebih sedikit⁽¹⁾.

Salah satu tumbuhan obat adalah *Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith. Tanaman ini merupakan tanaman yang termasuk genus dari *Zingiberaceae* yang diperkirakan 57 - 100 spesies terdistribusi mulai dari India, Burma, Thailand, China, Malaysia, Polynesia, Australia dan Indonesia⁽²⁾. Tanaman *Etilingera* di Indonesia sering digunakan sebagai obat demam, batuk, mengobati sakit telinga, dan menyembuhkan luka. Tanaman *Etilingera elatior* secara lokal di Sulawesi Tenggara biasa disebut *wualae*⁽³⁾.

Penelitian sebelumnya menyatakan buah *wualae*, mengandung steroid, alkaloid, polifenol, flavonoid, tanin, dan minyak atsiri. Kandungan flavonoid ekstrak buah *wualae* bermanfaat sebagai antioksidan, agen vasodilatasi, antibakteri, dan antiradang (antiinflamasi)⁽⁴⁾.

Dalam melakukan pengujian anti inflamasi, terdapat beberapa metode yang dapat dilakukan. Metode itu dapat bersifat *in vivo* maupun *in vitro*. Pengujian *in vivo* dilakukan dengan penginduksian zat penyebab inflamasi pada hewan uji, sedangkan pengujian *in vitro* tidak menggunakan hewan uji. Salah satu metode *in vitro* yang digunakan untuk menguji aktivitas anti inflamasi dari ekstrak *wualae* adalah dengan metode stabilisasi membrane sel darah merah (eritrosit)⁽⁵⁾. Pada penelitian ini bertujuan menentukan aktivitas anti inflamasi ekstrak etanol buah *wualae* (*Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith) dengan metode stabilisasi membran sel darah merah secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Sampel buah *Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith diperoleh dan dikumpulkan di desa Sambeani, Kecamatan Abuki, Provinsi Sulawesi Tenggara dan darah yang diperoleh dari probandus, NaCl, dinatrium hidrogen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{HO}$), natrium dihidrogen fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{HO}$), Na diklofenak, HCl, etanol 96%, H_2SO_4 (1 M), pereaksi Dragendorff, pereaksi Lieberman-Bourchard, asam asetat anhidrat, FeCl_3 (1%), kloroform, akuades, NaCl 0,9% (pengganti larutan isosalin),

reagen sianmet hemoglobin, dan pereaksi eosin.

Alat. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah rotary vacuum evaporator (Rotavapor, Buchi[®]), blender (Philips), timbangan analitik (Precisa[®]), gelas ukur (pyrex), hot plate (Stuart[®]), autoklaf (wisecrave[®]), erlenmeyer (Pyrex[®]), corong (Pyrex[®]), tabung reaksi (Pyrex[®]), gelas kimia (Pyrex[®]), labu takar (Pyrex[®]), sentrifuge (Boeco[®]), aluminium foil, kertas saring, tabung sentrifuge, spatula, batang pengaduk, pipet tetes, mikropipet 1000 μL (Eppendorf[®]), jarum dan spuit, oven (Froilabo[®]), seperangkat alat photometer 5010, pH meter (Jenway[®]), vortex (Bio-Rad[®]), dan toples kaca.

METODE. Ekstraksi. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi. Serbuk buah *Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith dimaserasi dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10. Pemisahan residu dilakukan selama 3 hari, lalu disaring dan diperoleh filtrat. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu maksimal 60 °C hingga diperoleh ekstrak kental etanol buah *Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith dan dihitung nilai rendamennya⁽⁶⁾.

Karakterisasi Ekstrak. Karakterisasi ekstrak meliputi penetapan sari larut air, sari larut etanol, penetapan kadar air, dan kadar abu.

Penetapan Sari Larut Air. Lebih kurang ditimbang 5 g ekstrak dimasukkan ke dalam botol bertutup dan dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL air, kemudian dikocok dengan menggunakan shaker selama 6 jam kemudian disaring. Hasil saringan diambil 20 mL filtrat dan masukkan ke dalam cawan yang sudah ditara. Cawan dipanaskan pada suhu 110 °C sampai berat konstan⁽⁷⁾.

Penetapan Sari Larut Etanol. Lebih kurang ditimbang 5 g ekstrak dimasukkan ke dalam botol bertutup dan dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL etanol 96%, kemudian dikocok dengan menggunakan shaker selama 6 jam kemudian disaring. Hasil saringan diambil 20 mL filtrat dan masukkan ke dalam cawan yang sudah ditara. Cawan dipanaskan pada suhu 110 °C sampai berat konstan⁽⁷⁾.

Penetapan Kadar Air. Kadar air ditentukan dengan menimbang 3 g sampel. Sampel dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105 °C selama 3-5 jam, kemudian dikeluarkan dari oven dan didinginkan dalam desikator selama 30 menit, setelah itu sampel ditimbang. Perlakuan ini dilakukan beberapa kali hingga berat sampel konstan⁽⁷⁾.

Penetapan Kadar Abu. Sebanyak 1 g ekstrak ditimbang dengan seksama ke dalam krus dan ditimbang dahulu (A_0), dipijarkan perlahan-lahan, kemudian suhu dinaikkan secara bertahap hingga 600 ± 25 °C

sampai bebas karbon, selanjutnya didinginkan dalam desikator serta ditimbang berat abu (A_1). Kadar abu dihitung dalam persen terhadap berat sampel awal⁽⁸⁾.

Skrining Fitokimia. Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak kasar yang telah diperoleh. Uji penapisan fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid. Berikut prosedur masing-masing pengujian.

Identifikasi Senyawa Alkaloid. Sebanyak 1 g ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi lalu dilarutkan dengan etanol, kemudian ditambahkan HCl 1 mL dan ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Dragendorff. Hasil uji positif diperoleh bila terbentuk endapan coklat atau merah hingga jingga⁽⁹⁾.

Identifikasi Senyawa Flavonoid. Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dengan etanol, kemudian ditambahkan 0,5 mL HCl pekat dan 0,2 gram serbuk magnesium. Terbentuk warna merah atau merah jingga menunjukkan adanya flavonoid⁽⁹⁾.

Identifikasi Senyawa Saponin. Sebanyak 1 g ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan air hangat lalu dikocok vertikal selama 10 detik, kemudian dibiarkan selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1-10 cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit, menunjukkan adanya saponin⁽⁹⁾.

Identifikasi Senyawa Tanin. Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu dilarutkan dengan etanol, kemudian ditambahkan 1 mL larutan $FeCl_3$ 1%. Golongan tanin positif bila terbentuk warna hijau ungu atau kehitaman⁽⁹⁾.

Identifikasi Senyawa Triterpenoid. Uji triterpenoid dilakukan dengan reaksi Lieberman-Buchard. Sebanyak 1 g ekstrak dilarutkan dengan etanol, kemudian ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat, selanjutnya ditambahkan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya triterpenoid⁽⁹⁾.

Uji Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Stabilisasi Membran Eritrosit. Pembuatan Larutan Uji. Larutan uji (4,5 mL) terdiri dari 1 mL dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M), 0,5 mL suspensi sel darah merah, 1 mL larutan sampel dan 2 mL hiposalin masing-masing dengan konsentrasi 250, 500, 750, 1000, 1250, 1500 ppm⁽¹⁰⁾.

Pembuatan Larutan Kontrol Positif. Larutan kontrol positif terdiri dari 1 mL dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M), 0,5 mL suspensi sel darah merah, 1 mL larutan Na diklofenak dan 2 mL hiposalin masing-masing dengan konsentrasi 250, 500, 750, 1000, 1250, 1500 ppm⁽¹⁰⁾.

Pembuatan Larutan Kontrol Negatif. Larutan kontrol negatif terdiri dari 1 mL dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M), 0,5 mL suspensi sel darah merah, 1 mL larutan isosalin dan 2 mL hiposalin⁽¹⁰⁾.

Pengukuran Stabilitas Membran Sel Darah Merah. Setiap larutan di atas diinkubasi pada suhu 56 °C selama 30 menit dan disentrifugasi pada 5000 rpm selama 10 menit. Cairan supernatan yang didapat diambil dan kandungan hemoglobinnya diukur dengan menggunakan photometer 5010 pada panjang gelombang 546 nm. Persen stabilitas membran sel darah merah dapat dihitung dengan rumus, sebagai berikut⁽¹¹⁾:

$$\% \text{ Stabilitas} = 100 - \left[\left(\frac{\text{Nilai pengukuran sampel uji}}{\text{Nilai pengukuran dari kontrol}} \right) \times 100 \right]$$

$$\% \text{ Hemolisis} = \left[\left(\frac{\text{Nilai pengukuran sampel uji}}{\text{Nilai pengukuran dari kontrol}} \right) \times 100 \right]$$

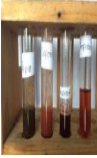
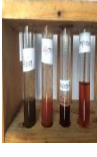
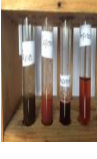

Analisis Data. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk melihat distribusi data dan dianalisis dengan uji *Levene* untuk melihat homogenitas data. Jika data terdistribusi normal dan homogenitas maka dilanjutkan dengan uji *Analisis of Varians* (ANOVA) satu arah dengan taraf kepercayaan 95% sehingga dapat diketahui apakah perbedaan yang diperoleh bermakna atau tidak. Jika terdapat perbedaan bermakna, dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan metode Tukey⁽¹²⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi. Sebanyak 19,41 kg ekstrak kering buah *Wualae* yang dimaserasi dengan alkohol dan dipisahkan dengan *rotary evaporator* didapatkan ekstrak kental 96,21 g dengan nilai rendamen 5,14%.

Skrining Fitokimia. Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi komponen fitokimia dan komponen utama ekstrak. Skrining fitokimia merupakan tahapan awal dalam menentukan kandungan senyawa suatu ekstrak⁽¹⁶⁾. Dalam penelitian ini senyawa-senyawa aktif yang diidentifikasi dalam buah *wualae* adalah senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, terpenoid, dan tanin. Dari hasil pengujian skrining fitokimia, didapatkan bahwa ekstrak etanol buah *Wualae* mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, dan terpenoid. Hasil skrining fitokimia buah *wualae* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia buah *wualae*.

Uji fitokimia	Pereaksi	Rujukan	Hasil	Kesimpulan
Alkaloid	Dragendorf	Terbentuknya endapan coklat ⁽⁹⁾	Terbentuk endapan coklat	Positif 
Flavonoid	Mg + HCl P	Terjadi perubahan warna menjadi merah atau jingga ⁽²⁶⁾	Terjadi perubahan warna menjadi merah.	Positif 
Saponin	Air	Timbulnya busa ⁽¹⁶⁾	Tidak terbentuk busa.	Negatif 
Tanin	FeCl ₃	Terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah ditambahkan FeCl ₃ 1% ⁽²⁷⁾	Terbentuk warna hijau kehitaman	Positif 
Terpenoid	Liebermann-butchart	Hasil positif yaitu terbentuknya warna coklat ⁽⁹⁾	Perubahan warna menjadi coklat	Positif 

Karakterisasi Ekstrak. Hasil karakterisasi dapat dilihat pada Tabel 2. Penetapan organoleptik ekstrak bertujuan untuk mendeskripsikan bentuk, warna, bau dan rasa untuk pengenalan awal yang sederhana seobjektif mungkin dengan panca indra⁽⁹⁾. Pada pemeriksaan organoleptik ekstrak yang meliputi bentuk, warna, rasa dan bau diperoleh hasil ekstrak etanol buah *wualae* yaitu berkonsistensi kental, berwarna merah tua, dan berbau khas. Penentuan kadar senyawa terlarut dalam pelarut tertentu (air dan etanol) dengan cara melarutkan ekstrak dengan pelarut (alkohol/air) untuk ditentukan jumlah larutan yang identik dengan jumlah senyawa kandungan secara gravimetrik⁽⁹⁾. Kadar sari larut air ekstrak buah *wualae* adalah 41,65%

dan kadar sari larut etanol ekstrak buah *wualae* adalah 61,07%. Hasil uji ini menunjukkan kadar senyawa dalam ekstrak lebih banyak terlarut dalam etanol dibandingkan dalam air. Hal ini disebabkan pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi menggunakan pelarut organik yaitu etanol sehingga senyawa-senyawa yang tersari atau terserap lebih besar senyawa organik dibanding dengan senyawa anorganik⁽¹⁷⁾.

Penentuan kadar air ditetapkan untuk memberi batasan minimal besarnya kandungan air dalam bahan baik ekstrak maupun simplisia, makin tinggi kadar air maka makin mudah untuk ditumbuhi jamur dan kapang sehingga dapat menurunkan aktivitas biologi simplisia dalam masa penyimpanan⁽¹⁸⁾. Kadar air pada

ekstrak buah *wualae* adalah 5,26%. Kadar air ekstrak sudah memenuhi persyaratan dimana kadar air ekstrak tidak boleh melebihi 10%⁽¹⁹⁾. Penentuan kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Prinsipnya ekstrak dipanaskan hingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sampai hanya unsur mineral dan anorganik saja yang tersisa^(17,18). Menurut Farmakope herbal I kadar abu tidak lebih dari 7%. Kadar abu ekstrak buah *wualae* adalah 6,28% yang menunjukkan bahwa ekstrak tidak tercemar logam-logam⁽¹⁹⁾.

Tabel 2. Hasil karakterisasi ekstrak.

Jenis karakterisasi	Hasil
Organoleptis	
Bentuk	Kental
Warna	Merah tua
Bau	Khas
Kadar air	5,26%
Kadar abu	6,28%
Kadar sari larut etanol	61,07%
Kadar sari larut air	41,65%

Aktivitas Antiinflamasi terhadap Stabilisasi Membran Eritrosit. Dalam penelitian ini metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antiinflamasi dari ekstrak buah *wualae* adalah dengan menggunakan metode stabilisasi membran sel darah merah, karena sel darah merah dianalogkan dengan membran lisosom yang dapat mempertahankan isi dari sitoplasma sehingga dapat menghambat lisis dan pelepasan isi dari sitoplasma. Lisosom mengandung mediator inflamasi yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan respon inflamasi⁽²⁰⁾. Oleh karena itu diharapkan senyawa dengan aktivitas penstabil membran dapat memberikan perlindungan secara signifikan pada membran lisosom dalam membatasi pelepasan zat-zat penyebab luka⁽²¹⁾.

Aktivitas antiinflamasi dari ekstrak buah *wualae* dapat dilihat dari penurunan nilai pengukuran hemoglobin pada larutan uji ekstrak buah *wualae* yang dibandingkan dengan nilai pengukuran hemoglobin pada larutan kontrol positif. Aktivitas antiinflamasi ekstrak dapat dikatakan berpotensi apabila nilai pengukuran hemoglobinnya mendekati atau sama dengan kontrol positif, dan akan lebih baik jika nilai hemoglobin ekstrak lebih kecil dari kontrol positif. Aktivitas antiinflamasi ekstrak tidak dilihat dari nilai hemoglobinnya saja, tetapi perlu dilakukan perhitungan persentase stabilitas dan persen hemolisis. Nilai persentase stabilitas ekstrak yang mendekati atau melebihi kontrol positif dapat dikatakan berpotensi

sebagai antiinflamasi⁽²²⁾. Nilai persen stabilitas dan persen hemolisis dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan Tabel 3. ekstrak buah *wualae* dapat berpotensi sebagai antiinflamasi, ini dibuktikan dengan nilai persen stabilitas ekstrak buah *wualae* dalam mempertahankan membran sel darah merah yaitu 57-84,89% (Gambar 1) lebih besar dari kontrol positif yaitu 62,61-72,63% (Gambar 1) dan nilai persen hemolisis ekstrak setelah diberi larutan hipotonik dan kondisi oksidatif yaitu 15,11-42,25% (Gambar 2) lebih kecil dari kontrol positif yaitu 37,39-23,37% (Gambar 2). Dari grafik dapat dilihat semakin meningkat kadar ekstrak maka semakin meningkat pula potensinya sebagai antiinflamasi. Pada grafik, konsentrasi ekstrak 250 ppm memiliki stabilitas mempertahankan membran sel darah merah sebesar 57,75%, nilai ini lebih kecil jika dibandingkan dengan nilai stabilitas natrium diklofenak pada konsentrasi 250 ppm yaitu sebesar 62,61%. Tetapi pada konsentrasi 500 ppm ekstrak memiliki nilai kestabilan yang sama dengan natrium diklofenak dengan konsentrasi 500 ppm yaitu sebesar 66,71%. Pada konsentrasi ekstrak 750 ppm, 1000 ppm, 1250 ppm, dan 1500 ppm memiliki nilai stabilitas yang lebih besar dibanding natrium diklofenak dalam mempertahankan membran sel darah merah yaitu 74,1%, 75,72%, 79,77%, dan 84,89%. Nilai stabilitas natrium diklofenak pada konsentrasi 750 ppm, 1000 ppm, 1250 ppm, dan 1500 ppm adalah 71,02%, 72,1%, 73,94%, dan 76,63%. Dari data tersebut dapat disimpulkan ekstrak buah *wualae* sangat berpotensi sebagai antiinflamasi dilihat dari nilai stabilitasnya yang sangat tinggi dan nilai hemolisis yang rendah dalam mempertahankan membran sel darah merah⁽²²⁾.

Senyawa dengan sifat menstabilkan sel darah merah atau menstabilkan lisosom dikenal karena kemampuannya untuk mengganggu proses awal fase reaksi inflamasi, yaitu pelepasan enzim fosfolipase A2. Fosfolipase A2 berfungsi mengubah fosfolipid dalam membran sel menjadi asam arakidonat, yang sangat reaktif dan cepat dimetabolisme oleh siklooksigenase (sintesis prostaglandin). Prostaglandin merupakan komponen utama yang menyebabkan nyeri dan peradangan⁽²³⁾.

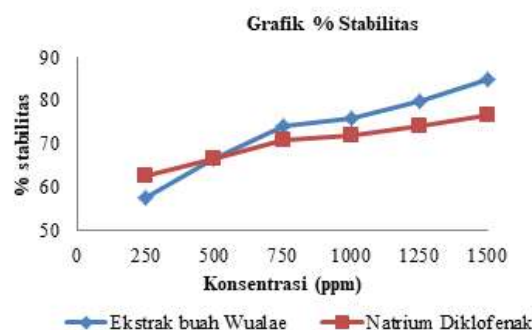
Buah *wualae* diketahui mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, tanin, dan terpenoid. Metabolit sekunder yang diduga memiliki peranan penting dalam menstabilkan sel darah merah dan beraktivitas sebagai antiinflamasi adalah flavonoid, tanin, dan terpenoid. Berdasarkan penelitian sebelumnya menyatakan bahwa flavonoid dapat menstabilkan membran lisosom baik secara *in vivo* maupun *in vitro*, sedangkan tanin diketahui memiliki kemampuan untuk mengikat kation, sehingga menstabilkan membran eritrosit dan makromolekul lainnya. Flavonoid juga

dapat menstabilkan membran dan sebagai penghambat proses enzimatik selama inflamasi berlangsung, flavonoid memiliki kemampuan menghambat kerja enzim siklooksigenase dan lipooksigenase dalam mengkonversi asam arakidonat menjadi prostaglandin dan leukotrien yang merupakan mediator inflamasi^(4,10,24). Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa senyawa terpenoid dari *ligustrum* memiliki

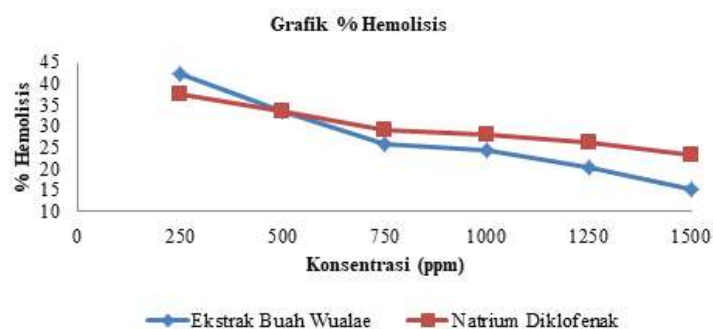
kemampuan menghambat aktivitas enzim siklooksigenase dalam mengkonversi asam arakidonat menjadi prostaglandin sebagai mediator inflamasi. Selain itu, terdapat penelitian yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid dan terpenoid dari ekstrak *Cintella asiatica* bertanggung jawab terhadap aktivitas antiinflamasi dalam menstabilkan membran sel darah merah^(11,25).

Tabel 3. Pengaruh ekstrak buah *wualae* dan natrium diklofenak terhadap stabilisasi membran sel darah merah.

Konsentrasi (ppm)	Ekstrak buah <i>Wualae</i>		Natrium diklofenak	
	% stabilitas	% hemolisis	% stabilitas	% hemolisis
250	57,75	42,25	62,61	37,39
500	66,71	33,29	66,71	33,29
750	74,10	25,90	71,02	28,98
1000	75,72	24,28	72,10	27,90
1250	79,87	20,13	73,94	26,06
1500	84,89	15,11	76,63	23,37



Gambar 1. Grafik stabilitas ekstrak buah *wualae* dan natrium diklofenak.



Gambar 2. Grafik hemolisis ekstrak buah *wualae* dan natrium diklofenak.

Analisis Data. Hasil pengukuran nilai Hb dari masing-masing kelompok kemudian diuji statistik menggunakan SPSS (*Statistical Package For Social Science*) ANOVA satu arah untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna antara konsentrasi tiap kelompok uji. Sebelum dilakukan ANOVA, data yang diperoleh harus terdistribusi normal dan homogen (Santoso, 2008). Berdasarkan uji normalitas nilai Hb pada masing-masing kelompok terdistribusi normal. Uji homogenitas bertujuan untuk menentukan apakah dari beberapa kelompok perlakuan memiliki varian yang sama atau tidak. Dengan kata lain, homogenitas berarti bahwa himpunan data yang dimiliki memiliki karakteristik yang sama (homogen) dan normal ($\text{sig} > 0,05$), hasil data yaitu dengan nilai $\text{sig.} > 0,497$ maka dapat dinyatakan bahwa data nilai hemoglobin tiap kelompok bervariasi homogen, sehingga dapat dilanjutkan pada pengujian ANOVA.

Berdasarkan hasil uji ANOVA satu arah ditunjukkan bahwa data memiliki nilai $\text{sig.} < 0,05$ yang berarti bahwa hipotesis H_0 (tidak terdapat perbedaan) ditolak dan hipotesis H_1 (terdapat perbedaan) diterima. Untuk melihat perbedaan konsentrasi bermakna antara konsentrasi ekstrak dalam menstabilkan membran sel darah merah maka analisis statistik dilanjutkan dengan analisis BNT dengan metode tukey. Konsentrasi ekstrak 250 ppm terdapat perbedaan signifikan pada semua konsentrasi pembandingan, ini membuktikan ekstrak konsentrasi 250 ppm tidak terlalu baik dalam menstabilkan membran sel darah merah jika dibandingkan dengan kontrol positif dan konsentrasi ekstrak lainnya. Sedangkan pada konsentrasi ekstrak 500 ppm dapat dikatakan tidak memiliki perbedaan signifikan pada konsentrasi kontrol positif 500 ppm, ini menunjukkan ekstrak dengan konsentrasi 500 ppm memiliki aktifitas antiinflamasi yang sama dengan kontrol positif 500 ppm. Pada konsentrasi ekstrak 750 ppm tidak terdapat perbedaan signifikan dengan konsentrasi ekstrak 1000 ppm dan konsentrasi kontrol positif 1000 ppm, 1250 ppm, dan 1500 ppm, ini menunjukkan ekstrak dengan konsentrasi 750 ppm memiliki kemampuan menstabilkan membran sel darah merah sangat baik karena aktivitasnya sebagai antiinflamasi tidak berbeda secara signifikan dengan kontrol positif pada konsentrasi 1000 ppm, 1250 ppm, dan 1500 ppm. Pada konsentrasi ekstrak 1000 ppm tidak terdapat perbedaan signifikan pada konsentrasi ekstrak 750 ppm dan konsentrasi kontrol positif 1250 ppm dan 1500 ppm, ini menunjukkan ekstrak dengan konsentrasi 1000 ppm memiliki kemampuan menstabilkan membran sel darah merah sangat baik karena efeknya sebagai antiinflamasi tidak berbeda secara signifikan dengan kontrol positif pada konsentrasi

1250 ppm, dan 1500 ppm. Pada konsentrasi ekstrak 1250 ppm dan 1500 ppm terdapat perbedaan sangat signifikan pada semua konsentrasi ekstrak dan konsentrasi kontrol positif, ini dikarenakan pada konsentrasi ekstrak 1250 ppm dan 1500 ppm memiliki aktivitas antiinflamasi yang sangat baik dibanding kontrol positif.

SIMPULAN

Ekstrak etanol buah *wualae* memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi dengan kemampuan mempertahankan membran sel darah merah dengan kandungan metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, dan triterpenoid.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan ucapan terimakasih kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia atas skema hibah penelitian (Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi 2018).

DAFTAR PUSTAKA

1. Sativa, O., Yuliet., dan Evi S. Uji Aktivitas Antiinflamasi Gel Ekstrak Buah Kaktus (*Opuntia elatior* Mill.) pada Tikus (*Rattus norvegicus* L.) yang Diinduksi Lamda Karagenan. *Online Journal of Natural Science*. 2014. 3 (2).
2. Silalahi, M. *Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith: Manfaat dan Aktivitas Biologi. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi*. ISBN. 978-602-96166-5-4. 2016.
3. Syarif, R.A., Firdha S., dan Aktsar R.A. Rimpang Kecombrang (*Etilingera elatior* Jack.) sebagai Sumber Fenolik. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2015. 2 (2).
4. Fahrudin, A.M., Fransiske T., Risnanda T., dan Irene E.R. Efektivitas Antibakteri Ekstraksi Buah Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.S.m). *Makassar Dent J*. 2016. 5 (3).
5. Kumar, S., dan Vivek K.R. *In-Vitro* Anti-Arthritic Activity of Isolated Fractions from Methanolic Extract of *Asystasia dalzelliana* Leaves. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2011. 4 (3).
6. Hidayati, N. A., Shanti L., dan Ahmad D. S. Kandungan Kimia dan Uji Antiinflamasi Estrak Etanol *Lantana camara* L. pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Jantan. *Bioteknologi*. 2008. 5 (1).
7. Isnawati, A., Alegentina, S., dan Widowati, L. Karakterisasi Ekstrak Etanol Biji Klabet (*Trigonella foenum-graecum* L) Sebagai Tanaman Obat Pelancar Asi. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 2013. 41(2).
8. Depkes RI. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Diktorat Jendral POM. Jakarta. 2000.

9. Djamal, R. *Kimia Bahan Alam Prinsip-Prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi*. Penerbit Universitas Baiturrahmah. Padang. 2012.
10. Wiranto, E., Muhamad A.W., dan Puji A. Aktivitas Antiinflamasi Secara *In-Vitro* Ekstrak Teripang Butoh Keling (*Holothuria leucospilota* Brandt) dari Pulau Lemukutan. *JKK*. 2016. 5 (1).
11. Chippada, S.C., Sharan S.V., Srinivasa R.B., dan Meena V. *In Vitro* Antiinflammatory Activity of Methanolic Extract of *Centella asiatica* by Hrbc Membrane Stabilisation. *Rasayan J. Chem.* 2011. 4 (2).
12. Santoso S. *Panduan Lengkap Menguasai Statistik Dengan SPSS 16*. PT. Elex Media Komputindo. Jakarta. 2008.
13. Mukhriani. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 2014. VII (2).
14. Lestari, A. B. S., Susanti L. U., dan Dwiatmaka Y. Optimasi Pelarut Etanol dalam Proses Ekstraksi Herba Pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) pada Suhu Terukur. *Bionatural*. 2012. 14 (2).
15. Tiwari, P., Bimlesh K., Mandeep K., Gurpreet K., dan Harleen K. Phytochemical Screening and Extraction. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 2011. 1(1).
16. Setyowati, W.A.E., Sri R.D., Ashadi., Bakti M., dan Cici P.R. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia*. ISBN : 979363174-0. 2014.
17. Angelina, M., Puteri A., Muchammad I., Lia M., dan Muhammad H. Karakterisasi Ekstrak Etanol Herba Katumpangan Air (*Paperomia pellucid* L. Kunth). *BIOPROPAL INDUSTRI*. 2015. 6 (2).
18. Salim, M., Novi S., Ani I., Hotnida S., Yahya., dan Tanwirotn N. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Kulit Buah Duku (*Lansium domesticum* Corr) dari Provinsi Sumatera Selatan dan Jambi. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2016. 6(2).
19. Direktorat Jendral POM. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1*. Dep Kesehatan RI. Jakarta. 2008.
20. Sumathi, S., dan Anuradha R. *In Vitro* Anti-inflammatory Activity of Flower Extract of *Couroupita guianensis* Aubl. *International Jurnal of Herbal Medicine*. 2016. 4 (5).
21. Karunanithi, M., David C.R., Jegadeessan M., dan Kavimani S. Comparative GC-MS Analysis and *In-Vitro* Screening of Four Species of Mucuna. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2012. 5 (4).
22. Askandari. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol 70% Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) Secara *In Vitro* dengan Metode Stabilisasi Membran HRBC (*Human Red Blood Cell*). *Skripsi*. Uin Syarif Hidayatullah. Jakarta. 2015.
23. Kumar, S., dan Vivek K.R. *In-Vitro* Anti-Arthritic Activity of Isolated Fractions from Methanolic Extract of *Asystasia dalzelliana* Leaves. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2011. 4 (3).
24. Oyedapo, O.O., Akinpelu B.A., Akinwunmi K.F., Adeyinka., dan Sipeolu F.O. Red Blood Cell Membrane Stabilizing Potentials of Extracts of *Lantana camara* and its Fractions. *Internatioal Journal of Plant Physiology and Biochemistry*. 2010. 2 (4).
25. Wu, J., Tang., Wu, H.M., dan Zhou, Z.R.. Hillasides A and B, Two New Cytotoxic Triterpene Glycosides from the Sea Cucumber *Holothuria hilla* lesson. *Asian Natural Products Research*. 2007.
26. Minarno, E. B. Skrining Fitokimia dan Kandungan Total Flavonoid pada Buah *Carica pubescens* Lenne dan K. Koch di Kawasan Bromo, Cagar, dan Dataran Tinggi Dieng. *El-Hayal*. 2015. 5 (2).
27. Harborne, J.B. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Penerbit ITB. Bandung. 2006.