

## **Uji Aktivitas Antiinflamasi Fraksi Metanol dan Fraksi n-Heksan Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica*) dengan Metode Stabilisasi Membran Sel Darah Merah Secara Invitro**

**Aulia Fajjar Anggara<sup>1</sup>, Wirasti<sup>2</sup>, Urwatul Waznah<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan

<sup>2</sup>Program Studi Farmasi, Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan

<sup>3</sup>Program Studi Farmasi, Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan

\*Corresponding author : Aulia Fajjar Anggara, email : [Alfajjar91@gmail.com](mailto:Alfajjar91@gmail.com)

### **ABSTRAK**

Buah asam jawa digunakan masyarakat sebagai antiinflamasi atau peradangan. Tanaman asam jawa (*Tamarindus Indica*) menghasilkan senyawa-senyawa organik seperti senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin dan saponin. Antiinflamasi merupakan obat yang bekerja dengan cara menghambat hormon pemicu peradangan. Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui aktivitas antiinflamasi fraksi methanol dan n-heksan daun asam jawa (*Tamarindus indica*) pada sampel darah sapi. Metode penelitian ini yaitu eksperimental menggunakan metode HRBC (*Human Red Blood Cell*) secara invitro. Data yang diuji adalah besarnya absorbansi pada masing-masing sampel, analisis data menggunakan ANOVA satu arah. Dilanjutkan dengan uji tukey untuk melihat perbedaan antar kelompok. Hasil dari penelitian ini adalah ekstrak daun asam jawa, fraksi metanol dan fraksi n-heksan dapat menstabilkan membran sel darah merah. Partisi metanol dan partisi n-heksan dengan konsentrasi 1000 ppm mempunyai efek stabilisasi membran. Fraksi metanol memiliki daya stabilisasi membrane 89,9% lebih besar dibandingkan fraksi n-heksan 86,6% dan senyawa yang diperkirakan mempengaruhi stabilisasi membran yaitu, alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan steroid. Simpulan ekstrak daun asam jawa, fraksi metanol dan fraksi n-heksan efektif untuk antiinflamasi dengan metode stabilisasi membran sel darah merah. Saran perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap senyawa yang berpengaruh pada aktivitas antiinflamasi stabilisasi membran sel darah merah dengan metode yang lain.

**Kata kunci :** *Antiinflamasi, Daun Asam Jawa, HRBC, Spektrofotometri.*

### **ABSTRACT**

Tamarind fruit is used by the community as anti-inflammatory or inflammatory. The tamarind plant (*Tamarindus Indica*) produces organic compounds such as alkaloids, flavonoids, phenolic compounds, tannins and saponins. Anti-inflammatory drugs are drugs that work by inhibiting hormones that trigger inflammation. The purpose of this study was to determine the anti-inflammatory activity of the methanol and n-hexane fractions of tamarind leaves (*Tamarindus indica*) in beef blood samples. This research method is experimental using the HRBC (*Human Red Blood Cell*) method by invitro. The data tested was the amount of absorbance in each sample, data analysis used one-way ANOVA. Followed by the Tukey test to see the differences between groups. The results of this study were tamarind leaf extract, methanol fraction and n-hexane fraction can stabilize red blood cell membranes. Methanol partition and n-hexane partition with a concentration of 1000 ppm have a membrane-stabilizing effect. The methanol fraction has a membrane stabilization power of 89.9% greater than the 86.6% n-hexane fraction and the compounds that are thought to affect membrane stabilization are alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, and steroids. In conclusion, tamarind leaf extract, methanol fraction and n-hexane fraction are effective anti-inflammatories by the red blood

cell membrane stabilization method. Suggestions need to do further research on compounds that affect the anti-inflammatory activity of red blood cell membrane stabilization by other methods.

**Keywords :** Anti-inflammatory, Tamarind leaves, HRBC, Spectrophotometry

## PENDAHULUAN

Asam jawa (*Tamarindus Indica L*) merupakan salah satu tumbuhan jenis tanaman tropis yang tumbuh di Indonesia. Menurut mun'im et al (2009) didalam ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus Indica*) terdapat kandungan senyawa aktif berupa flavonoid, tanin dan saponin. Kandungan-kandungan dalam Daun Asam Jawa tersebut dapat memberikan manfaat terutama bagi kesehatan. Salah satunya adalah obat antiinflamasi.

Inflamasi merupakan reaksi tubuh karena adanya infeksi, iritasi atau zat asing sebagai upaya mekanisme untuk mempertahankan tubuh. Pada reaksi inflamasi akan terjadi pelepasan histamin, bradikinin, prostaglandin, ekstrasvasasi cairan, migrasi sel, kerusakan jaringan dan perbaikannya yang ditunjukkan sebagai upaya pertahanan tubuh (Chippada et al., 2011). Secara umum berdasarkan mekanisme kerjanya obat-obat antiinflamasi dibagi menjadi dua golongan yaitu golongan steroid dan golongan non steroid.

Terdapat berbagai metode yang digunakan dalam pengujian obat, kandungan kimia, dan preparasi herbal untuk menunjukkan adanya aktivitas atau potensi antiinflamasi. Membran sel darah manusia atau eritrosit adalah analog dengan membran lisosomal dan stabilitasnya menunjukkan bahwa ekstrak lisosomal penting dalam membatasi respon inflamasi dengan menghambat pelepasan konstituen lisosomal dari neutrofil aktif seperti enzim bakterisida dan protease yang menyebabkan peradangan dan kerusakan jaringan lebih lanjut. Luka pada membran lisosom biasanya memicu pelepasan fosfolipase A2 yang menjadi perantara hidrolisis fosfolipid untuk menghasilkan mediator inflamasi, oleh karena itu diharapkan senyawa dengan aktivitas stabilisasi membran harus memberikan perlindungan yang signifikan dari membran sel terhadap pelepasan zat merugikan.

Dari keterangan diatas, peneliti tertarik untuk menguji aktivitas antiinflamasi fraksi metanol dan fraksi n-Heksan daun asam jawa (*Tamarindus Indica*) dengan metode stabilisasi membran sel darah merah secara in vitro.

## METODELOGI

### Bahan Dan Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan bahan, blender, *glasswear*, mikro pipet 1000  $\mu$ , autoklaf (*Memert*), oven, *centrifuge*, *vacum rotary evaporator*, *waterbath (lokal)*, dan spektrofotometer UV-Vis (*Shimatsu*).

Bahan ataupun reagen yang digunakan adalah daun asam jawa (*Tamarindus indica*) yang didapat dari Desa Kalilembu Kecamatan Karangdadap Kabupaten Pekalongan, darah sapi, EDTA, etanol 96%, methanol, n-Heksan, timbal asetat 10%, etil asetat, Natrium Diklofenak, aqua destilata, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O, NaCl, kloroform, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, HCl, besi (III) klorida, logam magnesium, pereaksi dragendorff, pereaksi mayer, pereaksi lieberman-Burchrad.

### Metode

Penelitian ini adalah eksperimental untuk menguji daya antiinflamasi ekstrak etanol, partisi metanol dan partisi n-heksan daun asam jawa (*Tamarindus Indica*). Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis statistik dengan uji ANOVA (*Analysis Of Variance*) satu arah dan dilanjutkan dengan uji Tukey untuk mengetahui perbedaan antar kelompok (Saputra, 2015)

### Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis statistik dengan uji ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji Tukey HSD dengan  $\alpha = 0,05$ , kemaknaan berdasarkan nilai  $p < 0,05$ . Analisis statistik ini akan dilakukan dengan bantuan program komputer.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian aktivitas antiinflamasi menggunakan metode stabilisasi membran sel darah merah secara invitro, dimana penelitian dilakukan diluar tubuh namun dibuat sedemikian rupa menyerupai keadaan didalam tubuh. Metode stabilisasi membran sel darah merah digunakan karena struktur sel mirip dengan lisosom dimana sel darah merah memiliki membran yang membungkus hemoglobin, saat membrane tersebut pecah maka hemoglobin yang ada didalamnya akan keluar, begitu pula dengan membran lisosom. Saat terjadi cedera membran lisosom akan mengeluarkan zat yang ada didalamnya seperti enzim fosfolipase. Lisosom berperan dalam proses inflamasi dimana enzim yang dikeluarkan yaitu enzim fosfolipase berperan mengubah fosfolipid menjadi asam akridonat yang selanjutnya akan menghasilkan prostaglandin, prostaglandin tersebut akan memberikan efek radang melewati vasodilatasi serta peningkatan permeabilitas dinding pembuluh darah dan membran sinovial, reseptor nyeri disensibilisasi sampai efek dari mediator lain diperkuat (Saputra, 2015).

Sel darah merah yang stabil terhadap gangguan yang di induksi larutan hipotonik dapat digunakan sebagai pengukuran untuk melihat stabilisasi membran lisosom. Dimana akan terjadi stres hipotonik yang mengganggu kestabilan membrannya. Stres hipotonik dapat menyebabkan oksidasi lipid dan protein sehingga membran sel rusak ditandai dengan terjadinya hemolisis atau kerusakan sel darah merah karena gangguan yang menyebabkan terlepasnya hemoglobin (Saputra, 2015). Besar kecilnya hemolisis yang timbul pada membran sel darah merah yang diinduksi larutan hipotonik dapat dijadikan ukuran untuk melihat aktivitas antiinflamasi ekstrak daun asam jawa.

Pada penelitian ini menggunakan beberapa larutan uji diantaranya, larutan dapar fosfat pH 7,4, larutan isosalin, larutan hiposalin, dan larutan uji. Larutan dapar fosfat Ph 7,4 dengan cara ditimbang dinatrium hidrogen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) Sebanyak 2,671 gram dilarutkan dalam aquades sampai 100 mL (0,15 M). Kemudian ditimbang sebanyak 2,070 gram natrium dihidrogen fosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) dilarutkan dalam aquades sampai 100 mL (0,15 M). Kemudian 81 mL larutan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0,15 M) dicampurkan dengan 19 mL larutan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0,15 M) pada suhu ruang. Selanjutnya dicek pH dengan pH meter, kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 2 jam digunakan untuk menstabilkan pH dimana pH normal darah adalah 7,4. Larutan isosalin digunakan karena konsentrasinya sama dengan tubuh, larutan isosalin untuk menggantikan larutan uji atau suspensi sel darah merah, larutan isosalin juga digunakan untuk mencuci darah dan membuat suspensi sel darah merah. Larutan hiposalin yaitu larutan yang konsentrasi airnya lebih besar sehingga semua larutan masuk kedalam sel darah merah dan akan mengakibatkan sel darah merah pecah. Dalam metode ini sel darah merah dibuat suspensi yang bertujuan untuk mengoptimalkan reaksi antigen-antibodi sehingga reaksi yang muncul dapat diamati dengan jelas, sebelum pembuatan suspensi sel darah merah dicuci dengan menggunakan larutan isosalin, pencucian dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan sel darah merah dengan plasma darah yang dapat mengganggu pengujian antiinflamasi.

Aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol, partisi metanol dan partisi n-Heksan daun asam jawa dapat dilihat dari adanya penurunan absorbansi, dimana semakin kecil nilai absorbansi maka semakin kecil hemoglobin yang keluar sehingga membran semakin stabil dan aktivitas antiinflamasi semakin besar. Dari nilai absorbansi yang besar maka akan menghasilkan nilai persen stabilitas yang besar pula, berikut nilai persen stabilitas tiap sampel :

Tabel I. Persentase stabilitas membrane sel darah merah

Konsentrasi	Ekstrak Etanol (%)	Partisi Metanol (%)	Partisi n-Heksan (%)
1000 ppm	90,2	89,9	86,6
800 ppm	89,5	85,4	85,7
400 ppm	88,9	84,6	84
200 ppm	87,2	84,1	82,1
100 ppm	87	83	78,5
Kontrol positif (100 ppm)		90,3	
Kontrol negatif		1,218	

Dari tabel I ekstrak daun asam jawa dapat menstabilkan sel darah merah dimana nilai rata-rata persen stabilitas yang dihasilkan mendekati kontrol positif. Hasil yang didapat juga menunjukkan kenaikan persen stabilitas membran sel darah merah pada tiap konsentrasi, dimana pada konsentrasi 1000 ppm hasil yang didapat sebesar 90,2%, konsentrasi 800 ppm sebesar 89,5%, konsentrasi 400 ppm sebesar 88,9%, konsentrasi 200 ppm 87,2% dan konsentrasi 100 ppm 87%.

Hasil dari nilai persen stabilitas membran sel darah merah ekstrak etanol, partisi metanol dan partisi n-Heksan pada masing-masing konsentrasi dilakukan analisis data uji one way ANOVA.

Uji one way ANOVA untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan data persen stabilitas membrane sel darah merah dari masing-masing kelompok uji dimana nilai signifikan kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ) dinyatakan data terdapat perbedaan sedangkan nilai signifikan lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ) dinyatakan data tidak terdapat perbedaan. Hasil dari uji one way ANOVA dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel II. Hasil uji one way ANOVA

Hasil Nilai signifikan	
Ekstrak etanol	0,000
Partisi metanol	0,000
Partisi n-Heksan	0,000

Dari tabel 2 hasil uji one way ANOVA persen stabilitas membran sel darah merah menunjukkan pada ekstrak etanol, partisi metanol dan partisi n-Heksan bahwa data berbeda secara bermakna dengan nilai signifikan kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ). Dari hasil tersebut dilanjutkan dengan uji tukey untuk melihat perbedaan tiap perlakuan.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pada penelitian ini disimpulkan. Partisi metanol dan partisi n-heksan mempunyai efek stabilisasi membran. Fraksi metanol memiliki daya stabilisasi membrane 89,9% lebih besar dibandingkan fraksi n-heksan 86,6% dan senyawa yang diperkirakan mempengaruhi stabilisasi membran yaitu, alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan steroid.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami haturkan kepada kedua orang tua, Bapak Taufik Rahman dan Ibu Yasmawati tercinta yang selaku memberikan kasih sayang, dukungan nasehat dan tak pernah henti mendoakan yang terbaik untukku. Teman-teman seperjuangan "Farmasi 2016" yang telah menjadi partner perjuangan dari awal kuliah sampai saat ini. Semoga Allah senantiasa meridhoi setiap langkah kita. Serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah banyak membantu dalam menyelesaikan skripsi penelitian ini. nSemoga Allah SWT membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu saya. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang dapat dijadikan masukan guna pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi yang akan dilakukan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Chippada SC, Sharan SV, Srinivasa RB, Meena V. (2001). In Vitro Antiinflammatory Activity Of Methanolic Extract Of Centella Asiatica by HRBC Membrane Stabilization. *RASAYAN Journal Chemistry*. 4(2) : 457-460
- Gandjar & Rohman. (2007). Kimia Farmasi Analisis. *Pustaka Pelajar*. Yogyakarta.
- Hanani, Endang. (2016). Analisis Fitokimia. Jakarta: *Penerbit Buku Kedokteran, EGC*.
- Handayani, Tuty. (2013). Khasiat Ampuh Akar Batang Daun: Musnahkan Segala Penyakit. *Sidoarjo: Infra Pustaka*.

- Indriani U., Idiawati N., Wibowo M. A (2018). Uji Aktivitas Antiinflamasi Dan Toksisitas Infus Kunyit (*Curcuma Domestica Val*), Asam Jawa (*Tamarindus Indica L*) Dan Sirih (*Piper Betle L*). *Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura*. Pontianak.
- Kusuma FR, zaky 2005. Tumbuhan Liar Berkhasiat Obat. Jakarta: *Argomedia* Jakarta.
- Lutfiana (2013). Uji Aktifitas Antiinflamasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera Lam*). Dengan Metode Stabilisasi Membran Sel Darah Merah Secara In Vitro. Skripsi. *Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta*.
- Marya, R.K. (2013). Buku Ajar Patofisiologi. Tangerang Selatan: *Binarupa Aksara Publisher*.
- Pratiwi.R, Harlia, Wibowo M.A. (2017). Aktivitas Antiinflamasi Dari Ekstrak Daun Nanas Kering (*Rhoeo Discolor*). *Fakultas MIPA Universitas*
- Putri C. R. H (2014). Potensi Pemanfaatan Tamarindus Indica Dalam Berbagai Terapi. *Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma.Surabaya*.
- Rahmadani N., dan Sumiwi S. A (2016) Aktivitas Antiinflamasi Berbagai Tanaman Diduga Berasal Dari Flavonoid. *Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran*. Bandung.
- Saputra, Andis (2015). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea Coromandelica*). Dengan Metode Stabilisasi Membran Sel Darah Merah Secara In Vitro. Skripsi. *Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta*.
- Sweetman, Sean C (Ed). 2009. Martindale”The Complete Drug Rreference”. Edisi ke-36. Great Britain: *The Pharmaceutical Press*. Hal: 44-46
- Tiwari, Kumar, Kaur Mandeep, Kaur Gurpreet & Kaur Harlem (2011). Phytochemical Screening and Extraction: A Review, *Internationale Pharmaceutical Sciencia* 1(1).
- Tjay, T.H & Rahardja, Kirana (2015). Obat-Obat Penting Edisi Ke 7. Jakarta: *PT Gramedia*