

Uji Aktivitas Antiinflamasi dari Fraksi Kloroform dan Etil Asetat dari Ekstrak Etanol *Gracilaria verrucosa* sp. Dengan Metode Denaturasi Protein

Silvia Zahira Shofa, Muhammad Zainul Fadli, Yoni Rina Bintari*

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan : Proses fisiologis yang terjadi ketika suatu organ terluka disebut inflamasi. Penatalaksanaan inflamasi dengan diberikan obat antiinflamasi golongan *non steroidal anti inflammatory drugs* (NSAID) dan *steroidal anti inflammatory drugs* (SAID) yang memiliki efek samping pada lambung, ginjal, dan kardiovaskular. *G verrucosa* merupakan alga merah yang memiliki kandungan bahan aktif flavonoid sehingga dapat dijadikan sebagai alternatif antiinflamasi dari bahan alam.

Metode : Penelitian menggunakan metode eksperimental laboratorium. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi kinetik menggunakan larutan etanol. Ekstrak etanol di lanjutkan dengan fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat, dan kloroform. Uji antiinflamasi menggunakan metode denaturasi *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan variasi konsentrasi 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm dan 1000 ppm, dan natrium diklofenak sebagai kontrol positif. Data hasil pengukuran rendemen dan %inhibisi dianalisis menggunakan *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) 26, melakukan uji normalitas, homogenitas dengan taraf signifikan $p>0,05$ dengan *sphiro-wilk*. Kemudian dilanjutkan dengan analisis T-test.

Hasil : Penghitungan rendemen didapatkan hasil tertinggi pada fraksi kloroform sebesar 0,184%. Fraksi kloroform mempunyai kandungan metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, terpenoid, tannin dan saponin. Sedangkan fraksi etil asetat mengandung saponin, alkaloid serta terpenoid. Aktivitas antiinflamasi (IC_{50}) yang paling tinggi adalah fraksi kloroform sebesar 144 $\mu\text{g/mL}$. Hasil analisis statistik pengaruh perbedaan pelarut pada fraksi berbeda secara signifikan terhadap rendemen dan %inhibisi $p<0,05$.

Kesimpulan : Fraksi kloroform pada ekstrak etanol *G verrucosa* memiliki aktivitas antiinflamasi tergolong kuat

Kata kunci : *Gracilaria verrucosa*, etanol, etil asetat, kloroform, BSA, Antiinflamasi

*Korespondensi :

Yoni Rina Bintari

Jl. MT Haryono 193, Kota Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

e-mail : yonirinabintari@unisma.ac.id

ANTIINFLAMMATORY

Silvia Zahira Shofa, Muhammad Zainul Fadli, Yoni Rina Bintari*

*Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: Inflammation is a physiological process that occurs in response to injury to a part of the body. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) manage inflammation, though these drugs have side effects on the stomach, kidneys, and cardiovascular system. Red alga *G verrucosa* contains active flavonoid ingredients, offering an anti-inflammatory alternative to natural ingredients.

Method: This research uses laboratory experimental methods. The kinetic maceration method with ethanol solvent extracted the sample. The ethanol extract was continued with fractionation using the solvent ethyl acetate and chloroform. The anti-inflammatory test uses the Bovine Serum Albumin (BSA) denaturation method with varying concentrations of 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm, and 1000 ppm, and diclofenac sodium as a positive control. Data from yield and %inhibition measurements were analyzed using Statistical Product and Service Solution (SPSS) 26, carrying out normality and homogeneity tests with a significance level of $p>0.05$ with *spiro-wilk*. Then, proceed with the T-test analysis.

Results: Calculating the yield obtained the highest result in the chloroform fraction of 0.184%. The chloroform fraction contains secondary metabolites of flavonoids, alkaloids, terpenoids, tannins, and saponins. Meanwhile, the ethyl acetate fraction contains saponins, alkaloids, and terpenoids. The highest anti-inflammatory activity (IC_{50}) was the chloroform fraction at 144 $\mu\text{g/mL}$. The statistical analysis results of the effect of different solvents in different fractions significantly affected the yield and % inhibition, $p<0.05$.

Conclusion: The chloroform fraction in the ethanol extract of *G verrucosa* has relatively strong anti-inflammatory activity

Keywords: *Gracilaria verrucosa*, ethanol, ethyl acetate, chloroform, BSA, anti-inflammatory

*Korespondensi :

Yoni Rina Bintari

Jl. MT Haryono 193, Kota Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

e-mail : yonirinabintari@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Inflamasi merupakan proses fisiologis yang disebabkan oleh kerusakan jaringan, yang disebabkan oleh pelepasan leukosit seperti protein plasma dan antibodi. Selama proses inflamasi akut dan kronis, sejumlah besar mediator kimia dilepaskan. Bagian terbesar dari mediator inflamasi adalah pemecahan asam arakidonat oleh enzim siklooksigenase, yang melepaskan asam arakidonat, termasuk prostaglandin¹. Obat-obatan yang biasa digunakan untuk mengatasi inflamasi meliputi Obat Anti Inflamasi Non Steroid (OAINS) yang dapat menghilangkan rasa sakit untuk jangka waktu yang signifikan. Selain itu, Kortikosteroid yang digunakan dalam jangka waktu lama dapat menimbulkan beberapa efek samping seperti osteoporosis, nekrosis, avascular, glaucoma, dan diabetes (Katzung 2014).

Dengan berbagai efek samping terkait dengan penggunaan obat tersebut. Hal ini mendorong upaya intensif untuk mencari alternatif obat anti inflamasi, terutama yang berasal dari bahan alami. Penelitian terkait alga memiliki potensi sebagai pilihan pengobatan antiinflamasi. Alga dapat memiliki potensi sebagai antiinflamasi dengan efek samping rendah atau tidak memiliki efek samping. Penelitian mengenai antiinflamasi memiliki perkembangan dengan memanfaatkan bahan alami pada tumbuhan. Pemanfaatan alga dengan menggunakan bagian batang, akar, daun, dan buah². Salah satu jenis alga yang perlu dilakukan uji antiinflamasi adalah rumput laut merah *G verrucosa*.

Gracilaria verrucosa Sp merupakan sejenis Rumput laut merah dibudidayakan di air laut oleh petani alga di pantai Dusun Tanjung Sari, Desa Kupang, Kecamatan Jabon, Kabupaten Sidoarjo. *G verrucosa* menyimpan senyawa metabolit sekunder yang aktif contohnya flavonoid, saponin, alkaloid, dan terpenoid. Diketahui, setiap senyawa aktif metabolit sekunder memiliki fungsi sebagai antiinflamasi.

Uji antiinflamasi yang digunakan yaitu metode *in-vitro*, memiliki kelebihan efisiensi sampel, waktu, dan tidak memerlukan hewan uji. Denaturasi protein adalah proses yang dipicu oleh faktor-faktor eksternal seperti suhu tinggi, keasaman atau kebasaan yang kuat, pelarut organik, atau keberadaan garam organik yang pekat. Dalam proses denaturasi ini, terjadi perubahan dalam struktur tersier dan struktur sekunder protein yang menyebabkan disorientasi, sehingga menyebabkan penurunan fungsi protein. Maka diperlukan penelitian yang memfokuskan pada pengidentifikasian fitokimia serta pelaksanaan uji antiinflamasi dengan menggunakan teknik penghambatan denaturasi pada protein.

METODE PENELITIAN

Desain, waktu, dan tempat penelitian

Jenis penelitian yang diterapkan merupakan eksperimen laboratorium secara *in vitro* metode *single-measure design true experimental design* menghitung IC₅₀. Waktu penelitian Juli hingga september 2024 di Laboratorium Pusat Riset

Kedokteran (LPRK) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Sampel Penelitian

Alga *G verrucosa* diperoleh dari Desa Kupang, Kecamatan Jabon, Kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur. *Gracilaria verrucosa* yang berhasil terkumpul disortasi secara basah untuk membersihkannya dari kotoran dengan mencuci menggunakan air yang mengalir. Selanjutnya sampel dikeringkan, dihaluskan dan disimpan dalam tempat kering wadah tertutup terhindar sinar matahari.

Proses Maserasi Ekstrak *Gracilaria verrucosa*

Simplisia *G verrucosa* seberat 50 gram dan ditambahkan pelarut sejumlah 500 mL dimasukkan ke wadah maserasi dan ditutup rapat. Selanjutnya dilakukan maserasi kinetik pada suhu ruang selama 1x24 jam. Hasil ekstraksi dipisahkan filtrat dan ampas menggunakan saringan. Kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak kental. Untuk memekatkan hasil ekstraksi, disimpan dalam oven suhu 30°C.

Proses Fraksinasi Ekstrak *Gracilaria verrucosa*

Dilakukan fraksinasi menggunakan metode fraksinasi cair cair yaitu Ekstrak kental yang sudah di oven dilakukan pengenceran dengan pelarut 1:1 kloroform 50 ml kemudian ditambahkan aquades 50ml, kemudian di kocok selama 15 menit. Kemudian diamkan selama 24 jam. Pisahkan masing masing pelarut, untuk pelarut kloroform dilanjutkan dengan menambahkan larutan etil asetat 50ml lakukan perlakuan yang sama. Lalu pisahkan kedua larutan itu, letakkan pada masing masing cawan selanjutnya simpan dalam oven 30°C, hingga menghasilkan ekstrak kental. Ekstrak kloroform dan etil asetat siap di uji

Perhitungan Rendemen fraksi

Rendemen dihitung menggunakan rumus:

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

Identifikasi Fitokimia

Dilakukan identifikasi fitokimia untuk metabolit sekunder flavonoid, tanin, saponin, alkaloid serta terpenoid

Uji *in vitro* aktivitas antiinflamasi

Larutan TBS (Tris Buffer Saline) disiapkan dengan menimbang 0,5 gram tris base dan 3,6 gram NaCl, kemudian larutan tersebut terlarut dalam 250 mL aquades, sesuaikan pH dengan menambahkan asam asetat dengan pH akhir 6,4-6,8. Pembuatan 0,2% BSA (*Bovine Serum Albumin*) pada TBS dengan menimbang 0,2 gram BSA tambahkan larutan TBS 100 mL.

Pembuatan larutan kontrol negatif dengan mengukur 0,5ml pelarut dan menambahkan BSA 0,2% ke dalam labu ukur berkapasitas 5 mL. Untuk membuat perpaduan kontrol positif, tablet Natrium diklofenak dihancurkan hingga halus menggunakan

alat penghancur seperti alu dan mortar, menimbang 20 mg Natrium diklofenak dilarutkan menggunakan larutan tbs di dalam labu ukur 20 mL, kemudian dikocok hingga larut. Didapatkan hasil konsentrasi 1000 ppm digunakan untuk larutan induk.

Larutan uji dibentuk dengan menimbang 20 mg ekstrak *G. verrucosa* yang dilarutkan menggunakan pelarut sebanyak 20 mL, didapatkan hasil konsentrasi 1000 ppm sebagai larutan induk, kemudian dibuat larutan konsentrasi 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm 800 ppm dan 1000 ppm.

Pengukuran Aktivitas Antiinflamasi

Setiap konsentrasi larutan (uji dan kontrol) diambil 0,5ml, ditambahkan 0,2% larutan BSA menyentuh nilai 5 ml. Campuran lalu memperoleh konsentrasi 1000 ppm, 800 ppm, 600 ppm, 400 ppm dan 200 ppm sebagai larutan uji dan kontrol positif.

Inkubasi pada waterbaht dengan suhu 30°C durasi 20 menit, panaskan menggunakan waterbath 85°C durasi 10 menit, selanjutnya didinginkan dengan suhu 25°C selama 20 menit. Larutan yang telah didinginkan dikocok menggunakan vortex dan absorbansinya dikalkulasikan memanfaatkan spektrofotometri UV-Vis yang memiliki panjang dari gelombang sebesar 660 nanometer. Pengujian aktivitas antiinflamasi diterapkan secara triplo, yaitu sejumlah 3 kali pengujian.

Perhitungan Persentase Penghambat Denaturasi Protein

Pengukuran persentase pada penghambatan denaturasi protein dikalkulasikan menggunakan rumus:

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

Keterangan:

Abs = Absorbansi

Tabel 2. Uji fitokimia *Gracilaria verrucosa*

Uji Fitokimia	Reagen	Sampel		Gambar	Interpretasi
		Etil asetat	Kloroform		
Flavonoid	Serbuk Mg dan HCL pekat 1 tetes	-	+		Warna kuning-jingga
Tanin	chloride (FeCl ₃)	-	+		Warna biru-biru keunguan
Saponin	Perlakuan dengan dikocok kuat	+	+		Busa permanen 10-15 menit
Alkaloid (Mayer)	NH ₃ 0,05N, H ₂ SO ₄ 2N, dan pereaksi Mayer	+	+		Endapan putih
Terpenoid	H ₂ SO ₄	+	+		Warna coklat-merah

Keterangan : (+) positif mengandung metabolik sekunder. Ekstrak *Gracilaria verrucosa* dengan pelarut etil asetat berisikan metabolik sekunder alkaloid, saponin dan terpenoid, dan ekstrak dengan pelarut kloroform berisikan metabolik sekunder flavonoid, saponin, alkaloid, tanin dan terpenoid.

Perhitungan Persentase Nilai IC₅₀

IC₅₀ dikalkulasikan menggunakan regresi linear antara tingkat inhibisi dalam persentase (Y) dan konsentrasi (X) sebagai variabel. Dari perhitungan diperoleh nilai IC₅₀ dari ekstrak.

Analisa Data

Data dihasilkan akan dievaluasi memanfaatkan perangkat lunak *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) 26, melakukan uji normalitas, homogenitas dengan taraf signifikan $p > 0,05$. Kemudian dilanjutkan pengujian menggunakan analisis T-test

HASIL DAN ANALISA DATA

Fraksi kloroform memiliki rendemen tertinggi dibanding dengan etil asetat yakni secara berturut turut sebesar $0,184 \pm 0,102$ dan $0,077 \pm 0,020$ yang dibuktikan dalam **tabel 1**.

Tabel 1. Hasil perhitungan rendemen *Gracilaria verrucosa*

Pelarut fraksinasi	Ulangan	Rerata rendemen (%) $\pm$ SD
kloroform	3	$0,184 \pm 0,102$
Etil asetat	3	$0,077 \pm 0,020$

Keterangan : Dari hasil di atas didapat jika rendemen maksimum didapati oleh pelarut kloroform dengan persen rendemen 0,184%

Hasil uji fitokimia secara kualitatif

Hasil uji fitokimia *Gracilaria verrucosa* memanfaatkan modifikasi pelarut didapatkan perolehan sesuai **Tabel 2**.

Hasil perhitungan persen inhibisi

Suatu ekstrak dikatakan memiliki potensi menghambat antiinflamasi jika memiliki persen inhibisi >20%. Dari tabel tersebut terlihat bahwa fraksi kloroform dengan konsentrasi 200ppm, 400ppm dan 600ppm memiliki persen inhibisi >20% secara berturut turut yakni, 39,78%, 39,27%, 43,81%. Sedangkan fraksi etil asetat yang memiliki persen inhibisi >20% pada konsentrasi 1000ppm sebesar 23,09%. Hasil perhitungan persen inhibisi terdapat dalam Tabel 3.

Tabel 3. Aktivitas Persen inhibisi dari fraksi kloroform dan etil asetat *Gracilaria verrucosa*

Pelarut	Konsentrasi (ppm)	Ulangan	Persen inhibisi(%)±SD
Kloroform	200	3	39,783±4,466
	400	3	39,273±5,412
	600	3	43,81±18,309
	800	3	3,91±7,403
	1000	3	-5,236±6,961
Etil asetat	200	3	12,71±5,659
	400	3	12,543±3,803
	600	3	8,353±4,959
	800	3	17,54±2,429
	1000	3	23,09±6,375
Natrium diklofenak (kontrol +)	1000	3	39,51±13,38

Keterangan : Aktivitas antiinflamasi *Gracilaria verrucosa* dengan pelarut kloroform mendapati nilai % inhibisi tertinggi dalam konsentrasi 600 ppm senilai 43,81; pelarut etil asetat nilai % inhibisi maksimum dalam konsentrasi 800 ppm sebesar 17,54 dan natrium diklofenak sebagai kontrol positif mendapati nilai % inhibisi dalam konsentrasi 1000 ppm senilai 39,51.

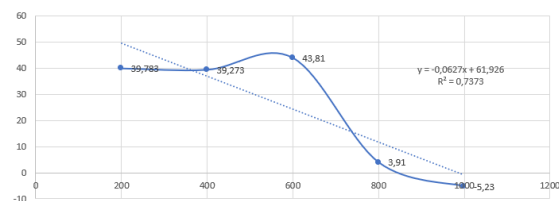
Hasil perhitungan IC₅₀ *Gracilaria verrucosa*

Nilai IC₅₀ didapatkan dari perhitungan grafik linear $y=a+bx$ dengan y =absorbansi dan x =konsentrasi. Grafik diperoleh dengan menggunakan *Microsoft excel*. Hasil penelitian di peroleh IC₅₀ fraksi kloroform 144,95 yang berarti memiliki aktivitas antiinflamasi sedang dan untuk fraksi etil asetat di peroleh IC₅₀ 3.324,18 yang berarti tidak memiliki aktivitas antiinflamasi, perolehan nilai IC₅₀ dapat dilihat pada Hasil perhitungan IC₅₀ terletak di Tabel 4.

Tabel 4. Aktifitas antiinflamasi (IC₅₀)dari fraksi kloroform dan etil asetat *Gracilaria verrucosa*

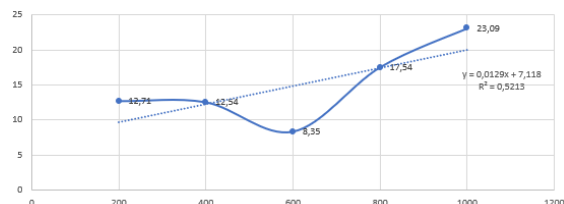
Pelarut	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Kloroform	144,95
Etil asetat	3324,18

Keterangan: Hasil perhitungan IC₅₀ pada *Gracilaria verrucosa* dengan pelarut kloroform sebesar 144,95, etil asetat sebesar 3324,18



Grafik 1. Hubungan antara konsentrasi dengan persen inhibisi fraksi kloroform

Keterangan: Diketahui bahwa persamaan regresi linear yang diperoleh memiliki koefisien korelasi $R^2 = 0,7373$. Hasil persamaan regresi linear yakni $y = -0,0627x + 61,926$ di masukkan dalam persamaan regresi beserta konsentrasi sebagai (sumbu x) dan persen inhibisi sebagai (sumbu y). Dengan mengganti nilai $y=50$ di peroleh IC₅₀ sebesar 144,95 ppm



Grafik 2. Hubungan antara konsentrasi dengan persen inhibisi fraksi etil asetat

Keterangan: Diketahui bahwa persamaan regresi linear yang dihasilkan memiliki koefisien korelasi $R^2 = 0,5213$. Hasil persamaan regresi linear yakni $y = 0,0129x + 7,118$ di masukkan dalam persamaan regresi beserta konsentrasi sebagai (sumbu x) dan persen inhibisi sebagai (sumbu y). Dengan mengganti nilai $y=50$ di peroleh IC₅₀ sebesar 3324 ppm

PEMBAHASAN

Rendemen

Hasil rendemen didapat dengan metode ekstraksi secara maserasi dengan etanol dan di lanjutkan fraksinasi dengan kloroform dan etil asetat ialah penggunaan pelarut kloroform memiliki hasil lebih tinggi dibanding pelarut etil asetat. Sesuai dengan Tabel 1. Diperoleh rendemen dengan pelarut kloroform 0,184%, pelarut etil asetat 0,077%. Berdasarkan hasil Analisa statistic didapatkan nilai signifikansi $p = 0,081$ ($p > 0,05$) yang memiliki makna perbedaan polaritas pelarut dalam fraksinasi memiliki perbedaan kemampuan mengekstrak yang dinyatakan dalam rendemen berbeda secara signifikan. Dari hasil penelitian didapatkan pelarut kloroform dapat menarik metabolit sekunder lebih banyak, dibandingkan penggunaan pelarut etil asetat.

Kloroform merupakan pelarut non polar memiliki nilai KD 4,81 memiliki kecenderungan dalam menarik senyawa bersifat hidrofobik dan metabolit sekunder non polar³. Etil asetat, dengan nilai KD 6,08, memiliki persentase rendemen yang paling rendah karena berperan sebagai pelarut non polar yang cenderung mengekstraksi senyawa lipofilik dan hidrofobik, hasil rendemen etil asetat sesuai dengan penelitian pada rimpang *Z.zerumbet* memiliki persentase relatif rendah dibandingkan pelarut kloroform. Hal ini menunjukkan kandungan bahan kimia yang terkandung dalam larutan non polar lebih besar.⁴

Kandungan fitokimia dalam *Gracilaria verrucosa*

Identifikasi metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai antiinflamasi dilakukan terhadap 5 jenis senyawa fitokimia yang memiliki kemungkinan terkandung di dalam ekstrak *G verrucosa*. Senyawa fitokimia yang diterapkan pengujian di antaranya flavonoid, tanin saponin, alkaloid, dan terpenoid. Skrining fitokimia diuji berdasarkan sifat senyawa menggunakan metode kualitatif. Didapatkan hasil uji fitokimia dari ekstrak *G verrucosa* lima senyawa aktif fitokimia yaitu flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Hasil uji fitokimia terdapat pada **Tabel 2**.

Flavonoid merupakan senyawa fenolik terhidroksilasi yang mengikat senyawa aromatik. Tindakan antiinflamasi flavonoid adalah menghambat aktivitas siklooksigenase (COX) pada lipoksigenase, menghambat penumpukan leukosit pada penghancuran neutrofil, dan menghambat mediator inflamasi seperti prostaglandin dan histamin. Zat flavonoid dapat digunakan sebagai antiinflamasi yang dapat memodifikasi proses inflamasi melalui berbagai cara, yaitu produksi NO (Nitric Oxide) oleh makrofag melalui produksi siklooksigenase. Hal ini menyebabkan pembentukan prostaglandin (PGE) untuk vasodilatasi dan peningkatan aliran darah sehingga mengurangi peradangan.⁵

Senyawa flavonoid memiliki kemampuan untuk menghambat denaturasi protein. Fenomena tersebut disebabkan oleh keberadaan gugus hidroksil dan cincin aromatik dalam struktur flavonoid. Flavonoid memiliki kemampuan untuk berinteraksi bersamaan dengan albumin melalui pembentukan ikatan hidrogen antara atom hidrogen pada gugus hidroksil flavonoid dan atom nitrogen pada residu asam amino, serta antara atom oksigen gugus karbonil dari flavonoid dan atom hidrogen dari residu asam amino pada rantai protein. Akibatnya, struktur protein muncul lebih stabil dan kurang rentan terhadap denaturasi.⁶

Ada beberapa jenis flavonoid yang larut dalam pelarut non polar, misalnya, aglikon polimetoksi atau isoflavon yang gugus gula atau bentuk glikosidanya tidak terurai dan hanya larut dalam pelarut nonpolar⁷

Mekanisme senyawa saponin sebagai anti inflamasi adalah dapat berinteraksi dengan berbagai

jenis lipid membran termasuk fosfolipid, prekursor prostaglandin dan mediator inflamasi lainnya serta menghambat pembentukan eksudat dan menghambat peningkatan permeabilitas pembuluh darah. Alkaloid mempunyai efek anti inflamasi dengan melepaskan histamin dari sel inflamasi dan menurunkan sekresi IL-1 oleh sel inflamasi dan PAF pada sel inflamasi.⁸

Terpenoid adalah salah satu metabolit sekunder turunan teroksidasi serta terdehidrogenasi dari senyawa terpen. Terpen merupakan sekelompok hidrokarbon, Diproduksi terutama oleh tumbuhan dan hewan tertentu seperti serangga. Rumus molekul terpen adalah (C₅H₈)_n. Terpenoid juga bisa disebut isoprenoid. Hal ini karena karbon mirip dengan senyawa isoprena. Secara kimia, terpenoid merupakan campuran unit isoprena yang mempunyai rantai terbuka atau siklik, serta mengandung ikatan rangkap, gugus hidroksil, gugus karbonil dan gugus fungsi lainnya.⁹

Tanin mengandung polifenol berbeda (C₆-C₃-C₆) yang membentuk protein, yang membentuk kompleks dengan polisakarida, terdiri dari berbagai oligomer dan polimer. Misalnya, garis fenolik, seperti pyrogallol dan resorsinol, meningkatkan dan memperkuat protein. Selain itu, tidak semua polifenol mengendapkan protein atau membentuk kompleks dengan polisakarida.¹⁰

Tanin memiliki sifat antioksidan. Antioksidan bertindak sebagai agen anti-inflamasi dalam berbagai cara, termasuk menghambat produksi stres oksidatif (O₂) oleh neutrofil, monosit, dan makrofag. Penghambatan oksidan O₂ mengurangi produksi H₂O₂, sehingga menghasilkan pembentukan asam hipoklorit (HOCl) dan OH.¹¹ Ini juga secara langsung menghambat produksi radikal bebas seperti radikal hidroksi (OH) dan asam hipoklorit.¹²

Alkaloid menunjukkan aktivitas anti-inflamasi dan antioksidan in vitro, mengurangi tingkat TNF- α serta IL-1 β dalam sel THP-1 yang dirangsang lipopolisakarida. Alkaloid ini sebagai antagonis reseptor P2X₇ oleh karena itu memiliki terapi yang luas untuk antiinflamasi dengan merangsang sel dendritik¹³.

Aktivitas antiinflamasi fraksi kloroform dan etil asetat *Gracilaria verrucosa*

Penelitian untuk mengetahui potensi antiinflamasi *Gracilaria verrucosa* untuk melihat daya hambat denaturasi protein dengan menetapkan besar persen *Inhibition concentration* 50% (IC₅₀). Efek antiinflamasi diuji melalui penambahan BSA (Bovine Serum Albumin) yang menyebabkan denaturasi saat dipanaskan. Metabolit sekunder yang dilepaskannya dapat mencegah proses denaturasi

protein dalam tubuh yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas pemicu proses inflamasi dengan cara mengaktifkan pelepasan mediator inflamasi.¹¹ Penghambatan denaturasi protein untuk mengetahui potensi antiinflamasi ditentukan dengan menghitung hasil absorbansi memanfaatkan alat spektrofotometer Uv-Vis.

Berdasarkan penelitian terlaksana dengan mengukur daya hambat denaturasi protein *G. verrucosa* dengan variasi konsentrasi 1000 ppm, 800 ppm, 600 ppm, 400 ppm, dan 200 ppm. Serta konsentrasi 1000 ppm menggunakan natrium diklofenak berperan sebagai kontrol positif mempunyai kemampuan menghambat COX-2 (Isoenzim cyclooxygenase-2). Aktivitas antiinflamasi yang diperoleh terdapat pada **Tabel 3**. Natrium diklofenak berperan sebagai kontrol positif pada konsentrasi 1000 ppm menunjukkan persentase sebesar 39,51%. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut natrium diklofenak mempunyai aktivitas anti inflamasi karena dapat menurunkan efisiensi denaturasi protein lebih dari 20%.¹¹ Pengujian aktivitas inflamasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada fraksi kloroform dengan konsentrasi 600 ppm di peroleh persen inhibisi 43,81 % yang berarti pada konsentrasi tersebut memiliki aktivitas antinflamasi lebih kuat di banding natrium diklofenak. Sedangkan fraksi etil asetat dengan konsentrasi 1000 ppm di peroleh persen inhibisi 23,09% yang menunjukkan arti lebih rendah daripada natrium diklofenak sebagai kontrol positif.

Nilai IC₅₀ tersebut merupakan konsentrasi ekstrak yang efektif untuk meredam 50% dari total radikal. Sampel tersebut dinyatakan memiliki aktivitas antiinflamasi yang sangat kuat jika nilai IC₅₀ <50 µg/mL, kuat apabila nilai IC₅₀ 50-100 µg/mL, sedang apabila nilai IC₅₀ 100- 150 µg/mL, lemah apabila nilai IC₅₀ 151-200 µg/mL, serta dinyatakan tidak aktif apabila memiliki nilai IC₅₀>200 µg/mL. ¹¹Berdasarkan hasil penelitian di peroleh IC₅₀ fraksi kloroform 144,95 yang berarti memiliki aktivitas antiinflamasi sedang dan untuk fraksi etil asetat di peroleh IC₅₀ 3.324,18 yang berarti tidak memiliki aktivitas antiinflamasi, perolehan nilai IC₅₀ dapat dilihat pada **table 4**.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian dapat diambil kesimpulan:

1. Fraksi kloroform *Gracilaria verrucosa* mempunyai perolehan rendemen tertinggi yaitu sebesar 0,184 % ± 0,102
2. Fraksi kloroform *G. verrucosa* positif mengandung metabolik sekunder flavonoid, saponin, alkaloid, tanin dan terpenoid. Sedangkan fraksi *Gracilaria verrucosa* dengan pelarut etil asetat berisikan metabolik sekunder alkaloid, saponin dan terpenoid.

3. Berdasarkan persen inhibisi Fraksi kloroform memiliki aktivitas antiinflamasi lebih besar dibanding natrium diklofenak sedangkan fraksi etil asetat memiliki aktivitas antiinflamasi lebih rendah dibandingkan natrium diklofenak.

SARAN

Mengacu hasil penelitian terlaksana oleh peneliti, berikut sejumlah rekomendasi yang dapat diajukan:

1. Perlu dilakukan eksplorasi fraksinasi menggunakan pelarut polar untuk dilakukan uji antiinflamasi.
2. Perlu dilakukan kombinasi dengan herbal lain untuk meningkatkan aktivitas antiinflamasi.
3. Perlu untuk dilakukan penelitian formulasi sediaan yang nantinya akan digunakan pada masyarakat sebagai antinflamasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih Disampaikan kepada IOM (Ikatan Orang Tua Mahasiswa) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang atas kontribusi dukungan dan bantuan penelitian secara finansial kepada peneliti.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nuryanto, M. K., Paramita, S., Iskandar, A., Ismail, S. & Ruslim, A. K., 2017. Aktivitas Anti-Inflamasi In Vitro Ekstrak Etanol Daun *Vernonia amygdalina* DELILE Dengan Pengujian Stabilisasi Membran, *Jurnal Sains dan Kesehatan*. **1**(8): 402–407.
2. Susiloningrum, D. & Indrawati, D., 2020. Penapisan fitokimia dan analisis kadar flavonoid total rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Valetton & Zijp.) dengan perbedaan polaritas pelarut, *Jurnal Keperawatan dan Kesehatan Masyarakat Cendekia Utama*. **9**(2): 126.
3. Soekaryo, E., Setyahadi, S. & Simanjuntak, P., 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Fraksi Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) sebagai Anti Inflamasi Penghambat Enzim Siklooksigenase-2 (COX-2) Secara In Vitro, *Jurnal Para Pemikir*. **6**(2): 139–144.
4. Murini, T., Wahyuningsih, M. S. H. & T. Satoto, T. B., 2018. Perbedaan Aktivitas Larvisida Antara Ekstrak Metanol, Etil Asetat dan Kloroform Rimpang Zingiber zerumbet (L) Smith pada *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), *Majalah Farmaseutik*. **13**(2): 88.

5. Audina, M., Yuliet & Khaerati, K., 2018. Efektivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Sumambu (*Hyptis capitata* Jacq.) pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus* L.) yang Diinduksi dengan Karagenan, *Biocelbes*. **12**(2): 17–23.
6. Firdaus, S., Fadli, M. Z. & Bintari, Y. R., 2024. Aktivitas antiinflamasi melalui metode denaturasi bsa (Bovine serum albumin) pada ekstrak rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) dengan variasi pelarut, *Journal Of Community Medicine*. **12**(1): 1–7.
7. Puspa Yani, N. K. L., Nastiti, K. & Noval, N., 2023. Pengaruh Perbedaan Jenis Pelarut Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.), *Jurnal Surya Medika*. **9**(1): 34–44.
8. Zaputri, D. M. & Triana, L., 2023. (2023). in *UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK DAUN BAWANG DAYAK (Eleutherine bulbosa (Mill.) Urb.) TERHADAP STABILITAS MEMBRAN SEL DARAH MERAH, Prosiding Asosiasi Institusi Pendidikan Tinggi Teknologi Laboratorium Medik Indonesi* vol. 190–199.
9. Hidayah, H., Fatmawati, F., Khairunnisa, J. & Putri, M. H., 2023. Aktivitas Triterpenoid Sebagai Senyawa Antikanker, *Innovative: Journal Of Social Science Research*. **3**(2): 10168–10183.
10. Putri, A. Y., 2021. (Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun, 2021). Uji Aktivitas Dan Efektivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksinasi Herba Sirih Cina (*Peperomia pellucida* L. Kunth) Terhadap *Staphylococcus aureus*, vol.
11. Mulyani, T., Setyahadi, S. & Wibowo, A. E., 2023. *PHARMACY : Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)* Uji Aktivitas Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Daun Torbangun (*Plectranthus amboinicus* (Lour .) Spreng .) dan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam .) dengan Metode Penghambatan, *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia*. **20**(01): 26–32.
12. Octavian, I. P. Y., 2022. Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia Tirucalli* L.), *Humantech: Jurnal Ilmiah Multidisiplin Indonesia*. **1**(7): 902–908.
13. Souza, C. R. M., Bezerra, W. P. & Souto, J. T., 2020. Marine alkaloids with anti-inflammatory activity: Current knowledge and future perspectives, *Marine Drugs*. **18**(3):.