

POTENSI ANTIINFLAMASI JUS BUAH BELIMBING (*Averrhoa carambola* L.) TERHADAP DENATURASI PROTEIN *IN VITRO*

Farizka Erianti¹, Dona Marisa², Eko Suhartono³

¹Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran
Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

²Bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat
Banjarmasin

³Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat
Banjarmasin

Email Korespondensi : Farizkaerianti@gmail.com

Abstrack: Starfruit (*Averrhoa carambola* L.) is an Asian tree that has been used in traditional medicine. Flavonoids, saponins, and tannins is thought to have antiinflammatory in inhibiting protein denaturation. Protein denaturation is a cause of inflammation. This study aims to determine the antiinflammatory potential of starfruit in inhibiting protein denaturation in vitro. This study is a quasi experimental, using a model reaction between 5 % BSA were heated to form protein denaturation by two groups: the juice as the test group and diclofenac sodium as the standard group, which is divided to a concentration of 10%, 20%, and 30%. Potential inhibition of protein denaturation is known to determine the value of IC₅₀. The results of this study indicate that the starfruit juice has the IC₅₀ value of 11.896 % (r=0.842), whereas for diclofenac sodium by 11.872 % (r=0.866). Positive r values indicate the existence of a positive relation between concentration and inhibiting protein denaturatiom potential. These results indicate that the starfruit juice as a potential inhibitor of protein denaturation for inflamamatory process in vitro.

Keywords: antiinflammatory, *Averrhoa carambola* L., protein denaturatin

ABSTRAK: Buah belimbing (*Averrhoa carambola* L.) adalah salah satu tanaman asli Asia yang digunakan sebagai tanaman herbal. Kandungan flavonoid, tannin, dan saponin pada buah memiliki potensi antiinflamasi melalui penghambatan denaturasi protein. Denaturasi protein merupakan salah satu penyebab terjadinya inflamasi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui potensi antiinflamasi buah belimbing dalam menghambat denaturasi protein *in vitro*. Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat eksperimental, menggunakan model reaksi antara BSA 5% yang dipanaskan untuk membentuk denaturasi protein dengan dua kelompok yaitu jus sebagai kelompok uji dan natrium diklofenak sebagai kelompok standar, yang terbagi menjadi konsentrasi 10%, 20%, dan 30%. Potensi penghambatan denaturasi protein diketahui dengan menentukan besarnya nilai IC₅₀. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jus buah belimbing memiliki nilai IC₅₀ sebesar 11.896% (r=0,842), sedangkan untuk natrium diklofenak sebesar 11.872% (r=0,866). Nilai r positif menunjukkan adanya hubungan positif antara konsentrasi dengan potensi penghambatan denaturasi protein. Dapat disimpulkan bahwa jus buah belimbing berpotensi sebagai penghambat denaturasi protein pada proses inflamasi *in vitro*.

Kata-kata kunci: antiinflamasi, *Averrhoa carambola* L., denaturasi protein.

PENDAHULUAN

Inflamasi merupakan sistem imun nonspesifik yang diaktifkan sebagai respon terhadap benda asing, kerusakan jaringan, atau keduanya¹. Penyebab inflamasi diantaranya adalah agen fisik, reaksi imunologik, infeksi organisme patogenik serta denaturasi protein². Dalam proses inflamasi, protein terdenaturasi berperan sebagai autoantigen, dimana keadaan ini dapat dijumpai pada beberapa gangguan seperti penyakit rematik³.

Berbagai terapi dan tatalaksana telah digunakan untuk mengatasi proses inflamasi, salah satunya dengan NSAIDs (*Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs*), salah satunya yaitu golongan diklofenak. Diklofenak merupakan obat antiinflamasi yang bekerja dalam penghambatan COX, yaitu COX-2 inhibitor⁴.

Selain obat-obatan NSAIDs juga dapat digunakan tanaman herbal. Bahan-bahan alami tersebut diharapkan memiliki kandungan senyawa dengan aktivitas anti-inflamasi yang signifikan. Keuntungan dari bahan-bahan alami (obat herbal) diantaranya adalah mudah didapat, harganya murah, dan efek sampingnya sedikit. Salah satu produk alami, yang merupakan sumber bagi senyawa bioaktif dan memiliki potensi untuk dikembangkan adalah buah belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*).

Buah belimbing manis mengandung kalsium, besi, betakarotin, vitamin B₁, vitamin B₂, vitamin C, serta flavonoid, tanin, saponin, dan alkalin. Buah belimbing sering dimanfaatkan sebagai antiinflamasi, antimikroba,

antimalaria, antipiretik, dan penawar racun. Di India belimbing manis dianggap salah satu yang terbaik sebagai antipiretik⁵.

Saat ini, telah banyak dilakukan penelitian tentang manfaat buah belimbing manis. Sripanidkulchai, dalam penelitiannya mengevaluasi efek antiinflamasi dan bakterisida buah belimbing manis, dan ekstrak batang belimbing ternyata menunjukkan efek antiinflamasi yang sebanding dengan asam salisilat dengan dosis 300 mg/kg selama satu jam dan menunjukkan aktivitas yang lebih kuat untuk durasi yang lebih lama⁶. Cabrini melaporkan bahwa ekstrak pada daun belimbing dapat mengurangi edema pada telinga yang disebabkan migrasi sel pada tikus. Hasil ini didukung dengan penggunaan tanaman ini untuk gangguan inflamasi pada kulit⁷. Menurut penelitian Patil Avinash, belimbing manis merupakan tanaman yang berpotensi tinggi sebagai antipiretik dan antiinflamasi. Teh dari rebusan daun belimbing manis bermanfaat untuk pengobatan *aphthous stomatitis* dan angina, sedangkan campuran daun dan buahnya dapat mengatasi muntah dan demam. Selain itu, daunnya juga dapat dipergunakan pada kondisi yang kronis seperti oligouri, bisul, pyoderma, serta edema postpartum, gastroenteritis, dan luka atau trauma⁷.

Saat ini belum banyak penelitian mengenai potensi jus buah belimbing manis sebagai antiinflamasi melalui penghambatan denaturasi protein *in vitro*, sehingga calon peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tersebut.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat eksperimental, dengan mengukur potensi jus buah belimbing manis terhadap denaturasi protein.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah tanaman belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.). Bahan kimia yang digunakan terdiri atas *aquadest*, *buffer fosfat salin* (PBS, pH 7,4), BSA 5%, larutan HCl 2,5 M, 2 mL konsentrasi jus buah belimbing manis dijadikan 10%, 20%, 30% dan natrium diklofenak. Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pipet tetes, tabung reaksi, gelas beker, *desicator*, mesin sentrifugal, tabung sentrifugasi, mortir, *waterbath*, *juicer*, mikropipet, dan spektrofotometer.

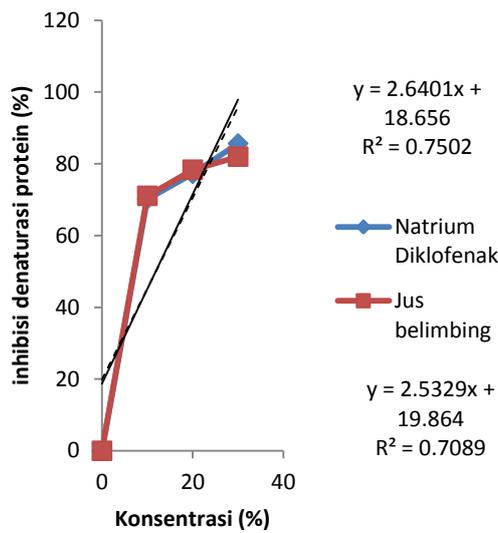
Variabel bebas pada penelitian ini adalah jus buah belimbing manis dan natrium diklofenak. Variabel pengganggu dalam penelitian ini adalah standarisasi alat, keadaan listrik, keadaan tanaman buah, dan lingkungan (suhu, kelembaban, dan cahaya).

Prosedur penelitian: buah belimbing manis dibeli dari pasar tradisional di Jl. A. Yani Banjarbaru. Belimbing manis dibersihkan, kemudian sebanyak 300 gram buah dihaluskan menggunakan *juicer*. Setelah itu ampas disaring, lalu filtratnya diambil untuk diperiksa. Model reaksi untuk inflamasi digunakan model reaksi antara BSA 5% dipanaskan untuk membentuk

denaturasi protein. Pada model ini digunakan kelompok uji dan kelompok standar. Kelompok uji digunakan 3 sampel berisi 0,45 mL BSA 5% yang ditambahkan dengan 0,05 mL jus buah belimbing manis dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan pada kelompok standar juga digunakan 3 sampel berisi 0,45 mL BSA 5% yang ditambahkan dengan 0,05 mL natrium diklofenak dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 30%. Kemudian masing-masing kelompok dipanaskan, selanjutnya absorbansi diukur dengan spektrofotometr pada $\lambda = 416$ nm. Aktivitas inflamasi *in vitro* dinyatakan dengan menentukan besarnya IC₅₀ (Inhibition Concentration 50) dengan cara membuat grafik linear $y = a + bx$ dengan $y =$ absorbansi dan $x =$ konsentrasi jus buah belimbing manis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi antiinflamasi jus buah belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) melalui penghambatan denaturasi protein dan penentuan nilai IC₅₀ (*inhibition concentration 50%*). Potensi penghambatan denaturasi protein ditentukan dengan mengukur nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer. Potensi penghambatan denaturasi protein jus buah belimbing dan natrium diklofenak ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1 Potensi Penghambatan Denaturasi Protein Jus Buah Belimbing Manis dan Natrium Diklofenak

. Penghitungan IC₅₀ jus buah belimbing dan natrium diklofenak masing-masing 11,896% dan 11,872%. Jus buah belimbing mempunyai daya hambat denaturasi protein lebih kecil dibandingkan dengan natrium diklofenak. Denaturasi protein dapat diartikan suatu perubahan atau modifikasi terhadap struktur sekunder, tersier, dan kuartener molekul protein tanpa terjadinya pemecahan-pemecahan ikatan kovalen. Denaturasi protein tidak mempengaruhi kandungan struktur utama protein yaitu C, H, O, dan N. Faktor-faktor yang menyebabkan terjadinya denaturasi protein yaitu suhu, pH, tekanan, aliran listrik, adanya campuran bahan kimia, alkohol, dan agen pereduksi⁸.

Pada penelitian ini panas merupakan salah satu faktor penyebab denaturasi protein, karena panas dapat mengacaukan ikatan hidrogen. Hal ini terjadi karena suhu tinggi dapat meningkatkan energi kinetik dan menyebabkan molekul penyusun protein bergerak atau

bergerak sangat cepat sehingga mengacaukan ikatan molekul tersebut. Proses denaturasi berlangsung secara tetap, dan tidak berubah, suatu protein yang mengalami proses denaturasi akan berkurangnya kelarutannya sehingga mudah mengendap.

Buah belimbing manis digunakan di beberapa negara seperti Indonesia, Malaysia, dan India sebagai alternatif obat herbal untuk antiinflamasi. Buah, batang, dan daun belimbing manis juga berfungsi sebagai antibakteri, antidiabetes, dan digunakan pada penyakit kulit seperti psoriasis dan dermatitis atopik. Hal ini disebabkan buah belimbing manis memiliki kandungan bahan alami, diantaranya Flavonoid, Tanin, dan Saponin⁹.

Senyawa flavonoid adalah kelompok fenol yang tersebar luas di semua tanaman. Flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa metabolit sekunder yang diteliti mempunyai aktivitas biologis dan farmakologis, antara lain sebagai antiinflamasi, antibakteri karena flavonoid mempunyai gugus hidroksil, aktivitas alergi, dan aktivitas tumor sitotoksik. Belum diketahui pasti mekanisme kerja dari flavonoid secara *in vitro*, tapi berbagai penelitian mengemukakan bahwa aktivitas antiinflamasi flavonoid bekerja dalam mendenaturasi protein. Pada penelitian Sowjanya Kumar dkk, biji dari *Lepidium sativum* yang mengandung flavonoid menunjukkan adanya potensi antiinflamasi melalui penghambatan denaturasi protein tapi tidak dijelaskan secara pasti bagaimana mekanisme dari penghambatan denaturasi tersebut. Pada penelitian Hyun Pyo Kim dkk, melaporkan bahwa flavonoid

menunjukkan adanya potensi antiinflamasi baik *in vivo* maupun *in vitro*¹⁰.

Tanin adalah senyawa inti berupa glukosa yang dikelilingi oleh lima gugus ester galoil atau lebih, dengan inti molekulnya berupa senyawa dimer asam galat, yaitu asam heksahidroksidifenat yang berikatan dengan glukosa. Tanin mempunyai efek farmakologis dan fisiologis yang berasal dari senyawa kompleks. Tanin mempunyai efektivitas sebagai antibakteri dan antiinflamasi. Senyawa tanin merupakan polifenol pahit yang bekerja mengikat dan memicu atau mengendapkan protein serta menghambat sintesis protein. Kemampuan tanin untuk mengendapkan protein ini disebabkan tanin memiliki sejumlah grup fungsional yang dapat membentuk kompleks kuat dengan molekul-molekul protein. Pembentukan kompleks ini terjadi karena adanya ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan ikatan kovalen antara kedua senyawa tersebut¹¹.

Pembentukan ikatan antara tanin-protein dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu (a) karakteristik protein, seperti komposisi asam amino, struktur, titik isoelektrik dan bobot molekul, (b) karakteristik tanin, seperti berat molekul, struktur, dan heterogenitas tanin, (c) kondisi pereaksi, seperti pH, suhu, waktu, komposisi pelarut. Semakin rendah pH, jumlah tanin yang berinteraksi semakin kecil. Hal ini menunjukkan penurunan afinitas tanin terhadap protein untuk membentuk kompleks dikarenakan adanya efek elektrostatis dari protein, pada pH tinggi gugus fenolhidroksil terionisasi maka tanin tidak berinteraksi dengan protein¹².

Saponin adalah glikosida yang terdapat pada beberapa tanaman. Saponin merupakan bentuk simpanan karbohidrat dari metabolisme tumbuhan. Saponin adalah senyawa aktif yang kuat dan menimbulkan busa jika digosok dalam air sehingga bersifat seperti sabun dan memiliki aktivitas antiinflamasi. Pada penelitian *in vitro* maupun *in vivo*, aktivitas inflamasi saponin dari berbagai tumbuhan sudah banyak dilaporkan namun belum banyak yang diketahui tentang mekanisme antiinflamasi secara pasti. Sangita Chandra dkk melaporkan bahwa ekstrak bunga *Mekania scandens* yang mengandung saponin memiliki potensi antiinflamasi dengan cara penghambatan denaturasi protein, tetapi tidak dijelaskan secara pasti bagaimana mekanisme saponin menghambat denaturasi protein¹³.

Denaturasi protein merupakan salah satu penyebab terjadinya inflamasi. Autoantigen yang dihasilkan pada penyakit-penyakit seperti artritis kemungkinan disebabkan denaturasi protein. Denaturasi protein merupakan keadaan hilangnya struktur dan fungsi protein melalui beberapa pencetus seperti suhu, pH, tekanan, aliran listrik, campuran bahan kimia, dan agen pereduksi. Beberapa penelitian melaporkan bahwa bahan-bahan alami dapat bekerja sebagai antiinflamasi dengan cara menghambat terjadinya proses denaturasi protein.

Pada penelitian ini, jus buah belimbing manis memiliki potensi antiinflamasi melalui penghambatan denaturasi protein sebanding dengan peningkatan konsentrasi. Berdasarkan penghitungan, IC₅₀ jus buah belimbing lebih kecil dibandingkan

dengan potensi natrium diklofenak. Beberapa faktor yang diduga dapat mempengaruhi potensi antiinflamasi jus buah belimbing, diantaranya perbedaan titik kerja senyawa kandungan jus buah manggis dengan natrium diklofenak, rendahnya konsentrasi senyawa aktif yang memiliki potensi antiinflamasi pada jus buah belimbing manis, dan terdapat senyawa-senyawa lain yang mempengaruhi potensi antiinflamasi pada jus buah belimbing manis.

PENUTUP

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa jus buah belimbing manis memiliki potensi antiinflamasi melalui penghambatan denaturasi protein. Daya hambat denaturasi protein sebanding dengan peningkatan konsentrasi jus buah belimbing manis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sherwood L. Fisiologi manusia. Jakarta: EGC, 2002.
2. Sylvia A. Price dan Lorraine M. Wilson. Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit Edisi 6. Jakarta: EGC, 2012.
3. Perumal, R. Dey, Akalanka. Manavalan, R. et al. Inhibition of albumin denaturation and anti inflammatory activity of furfuryl substituted pyrimidinoimidazolinones. Int. J. Chem. Sci 2008; 6(4): 2016-2022.
4. Anonymous. Farmakologi dan terapi edisi 5. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2007.
5. Payal, Ghewala. Pankti, Kalaria. Manodeep, Chakraborty. et al. Phytochemical and pharmacological profile of *Avverhoa Carambola Linn* : an Overview. International research journal of pharmacy 2012; 3(1): 88-92.
6. Dasgupta, P. Chakraborty, N. and Bala. Averrhoa carambola: An Update Review. International journal of pharma research and review 2013; 2(7): 58.
7. Avinash, Patil. Swapneel, Koli. Darshana, Patil. et all. A comprehensive review or an important medicinal plant – *Avverhoa Carambola L.* Pharmacognosy communications 2012;2(2):14- 16.
8. Stroker, H. Stephen. General, organic, and biological chemistry fifth edition. Belmont, CA USA: Cengage Learning, 2010.
9. England, Jeremy L. Haran, Gilad. Role of solvation effect in protein denaturation: from thermodynamics to single molecules and back. National institutes of health public access. 2011;62;257-277.
10. Cabrini, Daniela Almeida. Moresco, Henrique Hunger. Imazu, Pricila.,et al. Analysis of the Potential topical anti-inflammatory activity of *Averrhoa carambola L.* In mice. Hindawi publishing corporation. 2009;2011;1-7.

11. Ashok, Praveen Kumar. Upadhyaya, Kumud. Tannins are astringent. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*. 2012;1(3);45-50.
12. Ariningsih, K. Penambahan Sumber Tanin yang Berbeda dalam Perebusan Telur Asin terhadap Kualitas Mikrobiologi Selama Penyimpanan. Skripsi. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor, Bogor, 2004.
13. Hidayati, Nur Annis. Listyawati, Shanti. Dwi Setyawan, Ahmad. Kandungan kimia dan uji antiinflamasi ekstrak etanol *Lantana camara* L. Pada tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan. *Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta*. 2005;5(1);10-17.
- 14.