

Identifikasi Fitokimia dan Uji Aktivitas Antiinflamasi *In Vitro* Fraksi *n*- heksana Kapur Naga (*Calophyllum soulattri* Burm F) dengan Metode Uji Penghambatan Denaturasi Protein Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Fadlilaturrahmah^{1*}, Jariyah Amilia¹, Yuana Sukmawaty², Nashrul Wathan¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan, Indonesia

²Program Studi Statistik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan, Indonesia

Email: fadlilaturrahmah@ulm.ac.id

ABSTRAK

Tumbuhan kapur naga (*Calophyllum soulattri* Burm F) merupakan salah satu spesies dari keluarga Calophyllum yang terdapat di hutan Kalimantan khususnya daerah lahan basah. Secara empiris dimasyarakat memanfaatkan kulit batang *C. soulattri* untuk mengobati penyakit kulit yang salah satu mekanisme proses penyembuhan melawati tahap inflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan penelusuran kandungan fitokimia dari fraksi *n*-heksana kulit batang *C. soulattri* dan melakukan uji aktivitas antiinflamasi *in vitro* dengan metode uji penghambatan denaturasi protein menggunakan spektrofotometer uv-vis. Metode penelitian diawali dengan tahapan pembuatan simplisia, ekstraksi dengan etanol 96%, dan difraksinasi menggunakan *n*-heksana. Setelah itu dilakukan uji penelusuran kandungan fitokimia menggunakan uji tabung dan pengujian antiinflamasi menggunakan spektrofotometri uv-vis menggunakan metode penghambatan denaturasi protein secara kuantitatif dengan natrium diklofenak sebagai kontrol positif. Hasil dari identifikasi fitokimia diperoleh bahwa fraksi *n*-heksana mengandung alkaloid, fenol, tanin, flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Uji aktivitas antiinflamasi fraksi *n*-heksana kulit batang *C. soulattri* menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 27,43±0,74 ppm dan natrium diklofenak dengan nilai IC₅₀ sebesar 39,17±0,86 ppm. Berdasarkan uji t-test diperoleh hasil yang menunjukkan berbeda bermakna dengan IC₅₀ Natrium diklofenak (sig = 0,00). Kesimpulan dari penelitian ini yaitu fraksi *n*-heksana kulit batang *C. soulattri* memiliki aktivitas antiinflamasi yang lebih baik dari natrium diklofenak.

Kata Kunci: Bovine Serum, Albumin, IC₅₀, Natrium Diklofenak, Kuantitatif

ABSTRACT

Kapur naga (Calophyllum soulattri Burm F) is a species of the Calophyllum family that found in the forests of Kalimantan, especially in wetland areas. Empirically, the community uses the bark of C. soulattri to treat skin diseases, which is one of the mechanisms of the healing process through the inflammatory stage. The purpose of this study was to investigate the phytochemical content of the n-hexane fraction of the stem bark of C. soulattri and to test its anti-inflammatory activity in vitro with the protein denaturation inhibition test method using uv-vis spectrophotometer. The research method begins with the steps of making simplicia, extraction with 96% ethanol, and fractionation using n-hexane. After that, a test for tracing the phytochemical content was carried out using a tube test and an anti-inflammatory test using uv-vis spectrophotometry using a quantitative protein denaturation inhibition method with diclofenac sodium as a positive control. The results of the phytochemical identification showed that the n-hexane fraction contained alkaloids, triterpenoids, phenols, tannins, flavonoids, and saponins. The anti-inflammatory activity test of the n-hexane fraction of C. soulattri stem bark produced an IC₅₀ value of 27.43±0.74 ppm and diclofenac sodium with an IC₅₀ value of 39.17±0.86 ppm. Based on the t-test, the results showed that it was significantly different from the IC₅₀ of diclofenac sodium (sig = 0.00). The conclusion of this study is that the n-hexane fraction of the stem bark of C. soulattri has better anti-inflammatory activity than diclofenac sodium.

Keywords: Bovine Serum, Albumin, IC₅₀, Diclofenac Sodium, Quantitative

I. PENDAHULUAN

Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan untuk pengobatan tradisional oleh masyarakat adalah tumbuhan *Calophyllum soulattri* Burm F (kapur naga). Tumbuhan *C. soulattri* merupakan salah satu jenis dari keluarga *Calophyllum* yang terdapat di hutan Kalimantan (Wahidin *et al.*, 2020). Secara empiris masyarakat di Kalimantan Barat memanfaatkan kulit batang pohon *C. soulattri* untuk mengobati penyakit kulit seperti koreng dan borok (Sangat *et al.*, 2000). Penyakit kulit seperti borok pada proses penyembuhan lukanya melewati beberapa tahap salah satunya adalah tahap inflamasi.

Inflamasi merupakan suatu respon proteksi jaringan yang disebabkan oleh bakteri, zat kimia, trauma mekanik dan trauma fisik yang ditandai dengan adanya pembengkakan, rasa nyeri, kemerahan, dan peningkatan denaturasi protein (Novika *et al.*, 2021). Senyawa yang dapat menghambat denaturasi protein dapat dijadikan obat anti-inflamasi. Penggunaan obat antiinflamasi steroid (AIS) dan obat antiinflamasi nonsteroid (AINS) ini jika diminum dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping berupa iritasi lambung. Untuk mengatasi efek samping diperlukan pengobatan alternatif yaitu dengan memanfaatkan tanaman herbal (Hidayah *et al.*, 2021).

Pengujian antiinflamasi dilakukan dengan metode in-vitro. Kelebihan dari metode in-vitro yaitu tidak menggunakan banyak sampel, tidak menghabiskan waktu yang lama, dan tidak perlu menggunakan hewan uji (Ikrom, 2014). Secara in-vitro uji aktifitas antiinflamsi dapat menggunakan metode penghambatan denaturasi protein secara kuantitatif pada umumnya menggunakan spektrofotometri uv-vis. Uji ini merupakan skrining awal untuk aktivitas antiinflamasi. Denaturasi protein merupakan salah satu penyebab dari inflamasi yang mengakibatkan kerusakan pada struktur sekunder, tersier dan kuaterner dari protein. Kerusakan tersebut disebabkan adanya pemanasan dan zat pendenaturan sehingga fungsi biologis protein menjadi berkurang (Farida *et al.*, 2018).

Penelitian Septiana & Simanjuntak (2020), metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol kulit batang *C. soulattri* mengandung alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin, tanin. Menurut Fridiana (2012), senyawa flavonoid, tanin, dan steroid berpotensi digunakan sebagai antiinflamasi karena mampu menghambat denaturasi protein dalam tubuh sebagai pemicu mekanisme peradangan (inflamasi) dengan merangsang pelepasan mediator inflamasi. Maka perlu dilakukan penelitian terkait identifikasi fitokimia dan pengujian antiinflamasi dengan metode

penghambatan denaturasi protein pada fraksi *n*-heksana.

II. METODE

A. Preparasi Sampel

Kulit batang *C. soulattri* diperoleh dari Kecamatan Karang Intan, Kabupaten Banjar, Kalimantan Selatan. Kulit batang *C. soulattri* yang telah terkumpul sebanyak 5 kg dilakukan sortasi basah untuk menghilangkan kotoran yang menempel dibagian permukaannya. Sortasi basah dilakukan dengan cara mencuci sampel dengan air yang mengalir. Kulit batang *C. soulattri* dipotong kecil-kecil untuk memudahkan proses pengeringan. Kemudian sampel yang sudah dipotong-potong dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40-50 °C. Sampel yang sudah kering disortasi kering untuk membersihkan kotoran yang mungkin masih menempel. Kemudian sampel yang sudah disortasi kering dihaluskan menggunakan blender sampai terbentuk simplisia serbuk. Untuk mendapatkan bobot akhir, simplisia serbuk diayak dengan ukuran 14 mesh. Serbuk simplisia yang diperoleh kemudian ditimbang dan disimpan di tempat yang kering dengan wadah tertutup rapat dalam ruangan yang harus terhindar dari sinar cahaya matahari langsung (Luginda *et al.*, 2018; Handayani *et al.*, 2019).

B. Pembuatan ekstrak etanol

Serbuk kulit batang *C. soulattri* sebanyak 500 gram sampel serbuk, lalu dimasukkan ke dalam maserator dan ditambahkan pelarut etanol 96% hingga serbuk terendam seluruhnya dengan tinggi pelarut 1-2 cm di atas permukaan serbuk. Ekstraksi dilakukan selama 5 x 24 jam. Sesekali dilakukan pengadukan setiap 6 jam. Pelarut diganti tiap 1 x 24 jam. Ekstrak cair dan ampas ekstraksi dipisahkan dengan cara disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 1. Ekstrak cair yang diperoleh selanjutnya diuapkan menggunakan *waterbath* pada suhu 55 °C hingga diperoleh ekstrak kental dengan bobot tetap. Ekstrak yang telah didapat selanjutnya disimpan di wadah yang tertutup rapat. Ekstrak yang didapat ditimbang dan hasilnya dinyatakan dalam persen rendemen.

C. Pembuatan fraksi *n*-heksana

Ekstrak kulit batang *C. soulattri* selanjutnya di fraksinasi dengan metode cair-cair menggunakan corong pisah. Ekstrak kental yang didapat disuspensikan dengan aquades dengan perbandingan 1:2 dan diaduk hingga homogen. Suspensi kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah lalu ditambahkan dengan pelarut *n*-heksana 100 mL. Corong pisah ditutup lalu digojok selama 15 menit sambil dikeluarkan gas dengan membuka kran dari

corong pisah. Setelah itu, corong pisah ditegakkan dan dидiamkan sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah yang berupa fase air dan lapisan atas yang berupa fase pelarut organik dikeluarkan dari corong pisah. Selanjutnya, fase air dimasukkan kembali ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut *n*-heksana yang baru. Refraksinasi dilakukan hingga lapisan *n*-heksana bening.

D. Identifikasi Fitokimia

Identifikasi fitokimia dilakukan untuk senyawa alkaloid, tanin, fenol, flavonoid, saponin, terpenoid, dan steroid (Vernanda *et al.*, 2019; Samodra, 2019; Wirasti, 2019).

E. Uji *In Vitro* Aktivitas Antiinflamasi

1. Pembuatan Larutan TBS (*Tris Buffer Saline*)

Larutan TBS dibuat dengan cara melarutkan 4,35 gram NaCl ke dalam aquadest 200 mL, selanjutnya ditambahkan 605 mg *Triss buffer*, serta 200 mL aquadest. Kemudian untuk mengatur pH ditambahkan asam asetat glasial untuk mendapatkan pH patologis 6,2-6,5 kemudian ditambahkan 100 mL aquadest (Reynaldi & Yani, 2021).

2. Pembuatan 0,2% BSA (*Bovine Serum Albumin*)

Pembuatan BSA 0,2% dilakukan dengan cara melarutkan 0,2 gram BSA (*Bovine Serum Albumin*) dengan 100 mL larutan *Triss buffer saline* (Reynaldi & Yani, 2021).

3. Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Sebanyak 50 μ L *n*-heksana ditambahkan 0,2% BSA hingga diperoleh volume 5 mL (Farida *et al.*, 2018).

4. Pembuatan Larutan Uji dan Kontrol Positif

Sebanyak 50 mg fraksi *n*-heksana dilarutkan dengan *n*-heksana sebanyak 25 mL. Natrium diklofenak diambil sebanyak 50 mg dilarutkan pada pelarut etanol sebanyak 25 mL. Larutan induk yang digunakan adalah 2000 ppm. Kemudian larutan induk masing-masing diencerkan menjadi 12,5; 25; 50; 100; dan 200 ppm (Kanjikar & Londonkar, 2017). Penggunaan natrium diklofenak sebagai kontrol positif karena memiliki efek yang cepat dalam menghilangkan inflamasi (peradangan) selain itu juga merupakan obat antiinflamasi non steroid yang aksinya secara non selektif dan memiliki kelarutan yang baik di dalam air dan pelarut organik (Novika *et al.*, 2021).

5. Pengujian Aktivitas Antiinflamasi

Larutan uji dan natrium diklofenak diambil sebanyak 500 μ L dari setiap konsentrasi larutan kemudian ditambahkan 0,2% BSA hingga volume mencapai 5 mL. Masing-masing konsentrasi akan menghasilkan konsentrasi 12,5; 25; 50; 100; dan 200 ppm. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 15 menit. Selanjutnya dilakukan pemanasan selama 5 menit di suhu 70 °C, lalu didiamkan hingga dingin. Larutan dikocok dengan kuat alasan dilakukan pengocokan agar pada tabung tidak terjadi penggumpalan sehingga memudahkan saat pembacaan di spektrofotometri dan dilakukan pengukuran absorbansi dengan panjang gelombang 660 nm. Panjang gelombang maksimum dari protein adalah 660 nm (William *et al.*, 2008; Kanjekar & Londonkar, 2017).

6. Perhitungan Presentase Penghambatan Denaturasi Protein

Perhitungan presentase penghambatan denaturasi protein dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A_{KN} - A_{LU}}{A_{KN}} \times 100\%$$

Keterangan :

A_{KN} = Absorbansi Kontrol Negatif

A_{LU} = Absorbansi Larutan Uji

7. Perhitungan Presentase Nilai IC₅₀

Perhitungan nilai IC₅₀ dilakukan dengan membuat persamaan regresi linear sehingga didapatkan nilai IC₅₀ dari fraksi *n*-heksan dan fraksi *n*-butanol kulit batang *C. soulattri* dan natrium diklofenak. Ekstrak/konsentrasi obat untuk penghambatan 50% (IC₅₀) ditentukan dengan memplot persentase penghambatan sehubungan dengan kontrol terhadap konsentrasi perlakuan (Chandra *et al.*, 2012). Nilai IC₅₀ menunjukkan konsentrasi yang dapat menghambat sebanyak 50%. (Novika *et al.*, 2021). Aktivitas antiinflamasi semakin besar apabila nilai IC₅₀ yang didapatkan semakin kecil.

F. Analisis Data

Data hasil penelitian ini dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif berupa hasil identifikasi kandungan senyawa kimia yang terdapat fraksi *n*-heksana yang disajikan secara deskriptif. Data kuantitatif berupa hasil penentuan aktivitas antiinflamasi berupa nilai IC₅₀ dan uji signifikansi dengan uji *t*-test menggunakan SPSS versi 21 .

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Simplisia kulit batang *C. soulattri* diolah dari sampel segar kulit batang *C. soulattri* yang telah dikumpulkan dengan bobot sebesar 5 kg. Kemudian sampel segar disortasi basah untuk memisahkan kulit

batang dari bagian yang kurang baik. Selanjutnya untuk menghilangkan pengotor yang ada pada kulit batang dilakukan pencucian dengan air mengalir. Setelah itu, dilakukan proses perajangan menjadi bagian yang lebih kecil. Tahap selanjutnya untuk mengurangi kadar air pada sampel, dilakukan pengeringan dalam lemari pengering pada suhu 50 °C sehingga tidak mudah rusak oleh pertumbuhan bakteri atau jamur agar dapat disimpan dalam waktu yang lama. Selain itu, pengeringan yang dilakukan bertujuan untuk mengurangi kadar air sampel dan menghentikan reaksi enzimatik yang dapat mengakibatkan perubahan kandungan senyawa kimia sehingga penurunan mutu simplisia dapat dihindari (Supriningrum *et al.*, 2018).

Simplisia yang sudah kering kemudian disortasi kering dan dihaluskan menggunakan blender. Penghalusan simplisia bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel simplisia sehingga saat proses ekstraksi pelarut lebih mudah menyari kandungan kimia pada sampel *C. soulattri* dan persen rendemennya meningkat (Supriningrum *et al.*, 2018). Sampel yang telah dihaluskan menggunakan blender kemudian disaring menggunakan ayakan mesh no. 14 untuk memperoleh serbuk kasar (Handarni *et al.*, 2020). Penyaringan dilakukan menggunakan ayakan mesh no. 14 bertujuan agar serbuk memiliki ukuran

yang seragam (Handarni *et al.*, 2020). Simplisia serbuk kulit batang *C. soulattri* yang dihasilkan berupa serbuk kasar, aroma khas batang, tidak berasa, dan berwarna coklat tua (Gambar 1).



Gambar 1 .Serbuk kulit batang *C. soulattri*

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Metode ini digunakan karena mudah, sederhana dan tidak memerlukan proses pemanasan sehingga baik untuk senyawa-senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan. Proses maserasi dilakukan dengan merendam serbuk kulit batang *C. soulattri* ke dalam maserator dengan pelarut hingga proses ekstraksi sempurna ditandai dengan perubahan pelarut yang menjadi bening. Hal ini dilakukan agar mendapatkan seluruh senyawa kimia yang ada pada kulit batang *C. soulattri*.

Serbuk simplisia kulit batang *C. soulattri* ditimbang sebanyak 500 gram. Serbuk yang telah ditimbang kemudian direndam dengan pelarut etanol 96%. Pemilihan pelarut etanol 96% pada proses

maserasi karena merupakan pelarut yang dapat menarik senyawa-senyawa metabolit sekunder pada sampel baik senyawa non polar maupun senyawa polar. Selain itu, etanol 96% sebagai cairan penyari ialah lebih aman digunakan dan mudah menguap (Voight, 1994). Proses ekstraksi dilakukan selama 5 x 24 jam atau dilakukan 5x maserasi. Pergantian pelarut dilakukan setiap 1 x 24 jam dengan pengadukan setiap 6 jam sekali selama 5 menit. Pengadukan dilakukan agar meningkatkan frekuensi kontak antara serbuk dengan larutan penyari agar hasil yang lebih optimal (Nurhasnawati *et al.*, 2017). Pergantian pelarut dilakukan agar menarik senyawa kimia yang tidak dapat tertarik pada pelarut sebelumnya sehingga dapat menghasilkan ekstraksi yang lebih maksimal. Pergantian pelarut dilakukan menggunakan kertas saring. Penyaringan dilakukan agar ekstrak cair terpisah dari ampas (Saadah & Nuhasnawati, 2015). Ekstrak cair yang didapatkan diuapkan menggunakan *waterbath* pada suhu 50 °C sampai menunjukkan bobot tetap karena jika suhu yang digunakan terlalu tinggi akan menyebabkan kerusakan senyawa yang tidak tahan pemanasan (Arifin *et al.*, 2018). Bobot tetap diketahui dari hasil penimbangan tidak menunjukkan perbedaan lebih dari 0,25% (Kemenkes RI, 2017). Bobot ekstrak kental yang diperoleh kemudian dihitung rendemennya terhadap

bobot awal simplisia serbuk yang digunakan. Hasil rendemen dari serbuk, ekstrak, dan fraksi kulit batang *C.soulattri* dapat dilihat pada Tabel I.

Tabel I. Hasil Rendemen

Sampel	Rendemen (%)
Serbuk	10
Ekstrak	7,67
Fraksi	31,5

Persen rendemen ekstrak adalah perbandingan bobot ekstrak yang didapatkan dari proses ekstraksi terhadap bobot simplisia serbuk yang digunakan dalam proses ekstraksi (Dewatisari *et al.*, 2017). Rendemen menggunakan satuan persen (%), semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak semakin banyak (Maulida & Guntarti, 2015). Tujuan dari perhitungan rendemen ini adalah untuk mengetahui persentase perolehan hasil ekstrak sehingga nantinya bisa diketahui jumlah simplisia yang digunakan untuk membuat sejumlah ekstrak kental tertentu. Hal-hal yang dapat mempengaruhi besarnya persen rendemen ekstrak adalah ukuran partikel serbuk, metode ekstraksi, waktu dan kondisi penyimpanan, lama waktu ekstraksi, perbandingan jumlah pelarut terhadap jumlah sampel yang digunakan, jenis pelarut yang digunakan, lokasi pengambilan sampel, dan lingkungan

pengambilan sampel (Salamah & Widayarsi, 2015; Tambunan *et al.*, 2017).

A. Identifikasi Fitokimia

Identifikasi fitokimia dilakukan untuk menentukan kandungan golongan-golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada sampel. Selain itu, identifikasi juga dapat menunjukkan senyawa identitas yang menjadi ciri spesifik dari suatu tanaman. Hasil dari identifikasi senyawa ini dapat digunakan untuk pengujian lebih lanjut, seperti identifikasi senyawa aktif yang dapat berperan dalam pengobatan suatu penyakit (Indriyanti *et al.*, 2018; Maliangkay *et al.*, 2019). Hasil identifikasi fitokimia fraksi *n*-heksana dapat dilihat pada Tabel II.

Tabel II. Hasil identifikasi fitokimia

Golongan Senyawa	Hasil
Alkaloid	+
Fenol	+
Tanin	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Triterpenoid	+
Steroid	-

B. Uji Aktivitas Antiinflamasi

Uji aktivitas antiinflamasi fraksi *n*-heksana kulit batang *C. soulattri* dilakukan dengan metode penghambatan denaturasi protein. Kontrol positif yang digunakan adalah natrium diklofenak yang diketahui

memiliki aktivitas antiinflamasi. Persen inhibisi dari natrium diklofenak dapat dilihat pada Tabel III.

Tabel III. Nilai Persentase Natrium Diklofenak

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi
12,5	13,69
25	45,72
50	68,78
100	78,28
200	96,72

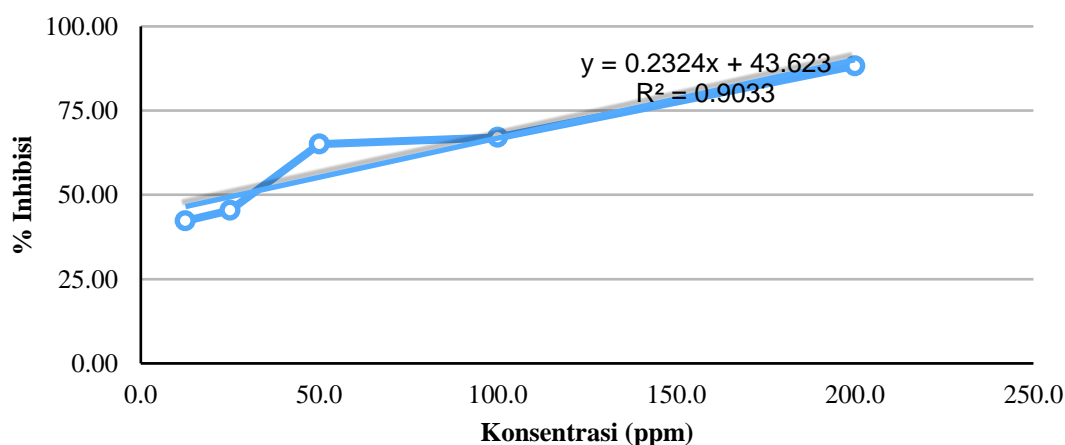
Nilai persen inhibisi larutan kontrol positif (natrium diklofenak) dapat diketahui

bahwa pada konsentrasi 25 ppm dapat menghambat denaturasi dan memiliki aktivitas antiinflamasi. Penelitian Farida *et al* (2018) data persen inhibisi larutan kontrol positif (natrium diklofenak) dapat diketahui bahwa larutan kontrol positif pada konsentrasi 12,5 ppm sudah dapat menghambat denaturasi protein.

Uji aktivitas antiinflamasi fraksi *n*-heksana kulit batang *C. soulattri* dilakukan pada konsentrasi 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, dan 200 ppm. Hasil aktivitas antiinflamasi fraksi *n*-heksana dapat dilihat pada Tabel IV dan Gambar 2.

Tabel IV. Aktivitas antiinflamasi fraksi *n*-heksan kulit batang *C. soulattri*

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi
12,5	42,28
25	45,42
50	65,09
100	67,08
200	88,30



Gambar 2. Kurva hubungan konsentrasi (ppm) dengan %inhibisi fraksi *n*-heksan kulit batang *C. soulattri*

Dari data persen inhibisi fraksi *n*-heksan kulit batang *C. soulattri* dapat diketahui bahwa pada konsentrasi yang dapat menghambat denaturasi protein dan mempunyai aktivitas antiinflamasi adalah 12,5 ppm. Pada penelitian Mah *et al* (2018) data persen inhibisi larutan *n*-heksan kulit batang *C. soulattri* sebesar 63,04%.

Penentuan nilai IC_{50} natrium diklofenak bertujuan untuk mengetahui besarnya aktivitas antiinflamasi. Natrium diklofenak digunakan sebagai kontrol positif karena merupakan salah satu obat yang dapat digunakan sebagai antiinflamasi (Farida *et al.*, 2018). Konsentrasi larutan natrium diklofenak yang digunakan adalah 12,5; 25; 50; 100; dan 200 ppm. Absorbansi

diukur pada panjang gelombang 660 nm karena panjang gelombang tersebut protein dapat teridentifikasi (William *et al.*, 2008; Kanjekar & Londonkar, 2017). Tabel hasil aktivitas antiinflamasi natrium diklofenak dan fraksi *n*- dapat dilihat pada Tabel V.

Nilai IC_{50} fraksi *n*-heksan kulit batang *C. soulattri* yang didapat dari perhitungan adalah 27,43 ppm yang berarti pada konsentrasi tersebut mampu menangkal atau menghambat inflamasi sebanyak 50%. Penelitian Mah *et al* (2018) nilai IC_{50} *n*-heksan kulit batang *C. soulattri* sebesar 204,95 ppm. Hasil analisis data dengan *t-test* menggunakan SPSS didapatkan hasil pada Tabel VI.

Tabel V. Nilai IC_{50} natrium diklofenak dan fraksi *n*-heksana

Kelompok	IC_{50}	$x IC_{50} \pm SD$	RSD (%)
Natrium diklofenak	48,32	48,14±0,32	0,66
	48,34		
	47,78		
Fraksi <i>n</i> -heksana	26,65	27,43±0,74	2,69
	27,51		
	28,12		

Tabel VI. Uji *t-test*

<i>Levene's Test</i>		<i>t-test</i>				
<i>F</i>	<i>Sig.</i>	<i>t</i>	<i>df</i>	<i>Sig. (2-tailed)</i>	<i>95% CI of the Difference</i>	
					Lower	Upper
1.45	.295	44.639	4	.000	19.43	22.01
		44.639	2.72	.000	19.15	22.29

Berdasarkan hasil uji *t-test* dengan taraf kepercayaan 95% dapat disimpulkan bahwa nilai IC₅₀ dari kelompok fraksi *n*-heksana dan natrium diklofenak berbeda bermakna karena memiliki nilai signifikansi 0,00 (<0,05). Fraksi *n*-heksan kulit batang *C. soulattri* memiliki nilai IC₅₀ lebih kecil dibandingkan dengan natrium diklofenak sehingga fraksi *n*-heksan memiliki aktivitas antiinflamasi lebih baik dibandingkan natrium diklofenak. Aktivitas antiinflamasi semakin baik apabila nilai IC₅₀ yang didapatkan semakin kecil (Novika *et al.*, 2021). Fraksi *n*-heksan memiliki kandungan senyawa kimia yang memiliki aktivitas antiinflamasi seperti triterpenoid, flavonoid, fenolik dan tanin. Menurut Hidayah *et al* (2021) sampel yang mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, fenolik dan steroid/triterpenoid dapat menghambat denaturasi protein sehingga memiliki aktivitas antiinflamasi karena struktur senyawa tersebut mengandung gugus hidroksil dan ikatan rangkap terkonjugasi yang dapat berikatan dengan residu asam amino pada struktur bovine serum albumin. Adanya ikatan tersebut mengakibatkan stabilnya struktur protein menjadi, sehingga jika dipanaskan protein yang berikatan dengan senyawa aktif dalam ekstrak tidak mengalami denaturasi.

IV. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah identifikasi fitokimia pada fraksi *n*-heksan kulit batang *C. Soulattri* mengandung alkaloid, fenol, tanin, flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Fraksi *n*-heksana kulit batang *C. soulattri* memiliki aktivitas antiinflamasi yang lebih baik dari natrium diklofenak.

KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada proyek PDWM LPPM ULM dengan nomor SK : 023.126/UN8.2/PL/2022 yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, H., S. Oktavia & S. Chania. (2019). Efek Toksisitas Sub Akut Fraksinasi Air Ekstrak Etanol Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* (L.)) terhadap Beberapa Parameter Darah Mencit Putih Jantan. *Jurnal Farmasi Higea*. 11: 166-174.
- Chandra, S., P. Chatterjee., P. Dey & S. Bhattacharya. (2012). Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 1:178-180.
- Dewatisari, W.F., L. Rumiyantri & I. Rakhmawati. (2017). Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak

- Daun Sansevieria sp. *Jurnal Penelitian dan Terapan*. 17: 197-202.
- Farida, Y., Rahmat, D., Amanda, A, W. (2018). Uji Aktivitas Antiinflamasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) Dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein. *Jurnal Farmasi*. 2: 225-230.
- Handayani, F., Apriliana, A., & Natalia, H. (2019). Karakterisasi dan skrining fitokimia simplisia daun Selutui Puka (*Tabernaemontana macracarpa* Jack). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 1: 49-58.
- Hidayah, N., Daniel, D., & Marlina, E. (2021). Aktivitas Ekstrak Metanol Daun Keledang (*Artocarpus lanceifolius* Roxb) Sebagai Antiinflamasi. In *Prosiding Seminar Kimia*. 05:126-131.
- Indriyanti, E., Y. Purwaningsih & D. Wigati. (2018). Skrining Fitokimia dan Standardisasi Ekstrak Kulit Buah Labu Kuning (*Cucurbita moschata*). *Jurnal Ilmiah Cendikia Eksakta*. 3: 20-25.
- Kanjikar, A. P., Aruna, L. H., & Londonkar, R. (2017). A novel investigation of in-vitro anti-inflammatory and antioxidant activity of *Ficus krishnae*. *European journal of biomedical and pharmaceutical sciences*. 10:313-317.
- Kemkes RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi 2*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Kemkes RI. (2020). *Farmakope Indonesia Edisi Keenam* Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Luginda, R.A., B.L. Sari & L. Indriani. (2018). Pengaruh Variasi Konsentrasi Pelarut Etanol terhadap Kadar Flavonoid Total Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) dengan Metode Microwave – Assisted Extraction (MAE). *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Farmasi*. 1: 1-9.
- Maliangkay, H. P., R. Rumondor & M. Kantohe. (2019). Skrining Fitokimia dan Potensi Antidiabetes Ekstrak Etanol Herba Ciplukan (*Physalis angulata* L.) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Pendidikan Biologi*. 4: 98-107.
- Maulida, R & A. Guntara. (2015). Pengaruh Ukuran Partikel Beras Hitam (*Oryza sativa* L.) Terhadap Rendemen Ekstrak Dan Kandungan Total Antosianin. *Pharmaciana*. 5: 9-16.
- Novika, D. S., Ahsanunnisa, R., & Yani, D. F. (2021). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Penghambatan Denaturasi Protein. *Stannum: Jurnal Sains Dan Terapan Kimia*. 1:16-22.
- Reynaldi, R., & Yani, D. F. (2021). Potensi Anti-Inflamasi Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata* L) Terhadap Denaturasi Protein Secara In Vitro. *Spin Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia*. 1: 12-21.
- Salamah, N & E. Widyasari. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphorbia longan* (L.) Steud.) dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Difenil-1-Pikrilhidrazil. *Pharmaciana*. 5: 25-34.
- Samodra, G. (2019). Standardisasi Parameter Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Buah Asam Gelugur (*Garcinia atroviridis* Griff.). *Jurnal Kesehatan, Kebidanan, dan Keperawatan*. 11:16-26.
- Sa'adah, H & H. Nurhasnawati. (2015). Perbandingan Pelarut Etanol dan Air pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 1: 149-153.
- Sangat, H. M., Zuhud, E. A. M., & Damayanti, E. K. (2000). *Kamus Penyakit dan Tumbuhan Obat*

- Indonesia (Etnofitomedika)*. Pustaka Populer Obor, Indonesia.
- Supriningrum, R., N. Fatimah., & S. N. Wahyuni. (2018). Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.) berdasarkan Perbedaan Cara Pengeringan. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 2: 156-161.
- Tambunan, B.Y., S. Ginting & L.M. Lubis. 2017. Pengaruh Suhu dan Lama Pengeringan terhadap Mutu Bubuk Sate Padang. *Jurnal Rekayasa Pangan dan Pertanian*. 5: 258-266.
- Vernanda, R.Y., M.R. Puspitasari, & H.N. Satya. (2019). Standarisasi Spesifik dan Non Spesifik Simplisia Dan Ekstrak Etanol Bawang Putih Tunggal 31 Terfermentasi (*Allium sativum* Linn.). *Journal of Pharmacey Science and Practice*. 6:74-83.
- Wahidin, W., Ponisri, P., & Ohorella, S. (2020). Sifat Fisis Kayu Bintangur (*Calophyllum soulattri* Brum. f.) Asal Makbon Kota Sorong. *Jurnal Agrohut*. 2:54-63.
- Williams, L. A. D., A. O. Connar., L. Latore., O, Dennis., S. Ringer., J. A, Whittaker., J. Conrad., B. Vogler., H. Rosner & W. Kraus. (2008). The in vitro anti-denaturation effects induced by natural products and non-steroidal compounds in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process. *West Indian Medical Journal*. 04: 327-331.
- Wirasti. (2019) . Penetapan Kadar Fenolik Total, Flavonoid Total, dan Uji Aktivitas Antioksidan EKstrak Daun Benalu Petai (*Scurrula atropurpurea* Dans.) Beserta Penapisan Fitokimia. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*. 4: 1-5.