SKRIPSI

UJI AKTIVITAS INFLAMASI SECARA IN-VITRO DENGAN METODE DENATURASI PROTEIN PADA EKSTRAK DAUN LIMPASU *(Baccaurea lanceolata)*

GRASELA
NIM :D1B121186

PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MEGAREZKY
MAKASSAR
2025

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI SECARA INVITRO DENGAN METODE DENATURASI PROTEIN PADA EKSTRAK DAUN LIMPASU (*Baccaurea lanceolata*)

Disusun serta diajukan guna memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana farmasi

GRASELA
NIM: D1B121186

PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MEGAREZKY
MAKASSAR
2025

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi dengan judul :

UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI SECARA INVITRO DENGAN METODE DENATURASI PROTEIN PADA EKSTRAK DAUN LIMPASU (*Baccaurea lanceolata*)

Telah disetujui untuk dipertahankan di hadapan
Tim Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Megarezky
pada hari Kamis tanggal 14 Agustus 2025

Pembimbing I	Pembimbing II
(apt. Tenri Ayu Adri, S.Farm., M.Biomed.)	(apt. Widya Ariati, S. Farm., M.Si.)
NIDN : 0915089702	NIDN : 0907109403

Mengetahui,

Ketua Program Studi

(Dr. apt. Muhikma Awaluddin, S.Farm., M.Si.)
NIDN : 0922029102

HALAMAN PENGESAHAN

Pada hari ini Kamis tanggal 14 bulan Agustus tahun 2025, bertempat di Ruang tutorial Fakultas Farmasi Universitas Megarezky, telah dilaksanakan Ujian Skripsi sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Program Sarjana Farmasi terhadap mahasiswa atas nama:

Nama	: GRASELA
NIM	: DIB121186
Program Studi	: Farmasi
Jenjang	: Strata 1
Judul Skripsi	: UJI AKTIVITAS ANTI INFLAMASI SECARA INVITRO DENGAN METODE DENATORASI PROTEIN PADA EKSTRAK DAUN LIMPASU (*Baccaurea lanceolata*)

Yang telah diuji oleh Tim Penguji Skripsi, sebagai berikut:

Tim Penguji	Tanda Tangan
1. apt. Tenri Ayu Adri, S.Farm ., M.Biomed	(.....)
2. apt. Widya Ariati, S.Farm., M.Si	(.....)
3. apt. Sri Wahyuningsih, S.Si., M.Si	(.....)

Mengetahui,

Dekan Fakultas Farmasi	Ketua Program Studi Sarjana farmasi
Dr. apt. Hesse Yuliana, S.Si., M.Si.	Dr. apt. Nurhikma Awaluddin,S.Farm.M.Si.
NIDN. 09 231179 01	NIDN. 09 220291 02

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan **Skripsi** ini yang berjudul:"**Uji Aktivitas Antiinflamasi Secara Invitro Dengan Metode Denaturasi Protein Pada Ekstrak Daun Limpasu *(Baccaurea lanceolata)*"**.

Penyusunan karya tulis ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Studi S1 Farmasi, **Fakultas Farmasi Universitas Megarezky Makassar.** Penulis menyadari bahwa tanpa bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak, karya tulis ini tidak akan dapat terselesaikan dengan baik.

Dengan penuh rasa hormat dan cinta, penulis menyampaikan **ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada kedua orang tua tercinta Ayah Saddu dan Ibu Hibur**, yang senantiasa mendoakan, mendampingi, serta memberikan semangat, kasih sayang, dan dukungan moril maupun materil tanpa henti. Tanpa keikhlasan dan doa dari Ayah dan Ibu, penyusunan Skripsi ini tidak akan pernah terwujud.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya juga penulis sampaikan kepada:

1. **Bapak Dr. H. Alimuddin, SH., MH., M.Kn. Sebagai Pembina Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas arahan dan pembinaan yang senantiasa menjadi fondasi dalam pengembangan institusi dan mahasiswa.
2. **Ibu Almh. Hj. Suryani, SH., MH. Sebagai Pendiri Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas dedikasi dan kontribusi luar biasa dalam mendirikan

lembaga pendidikan yang menjadi wadah pengembangan ilmu dan karakter.

3. **Bapak Moch. Noer Alim Qolby, S.H., LLM. Sebagai Ketua Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas dukungan dan kebijakan strategis yang memfasilitasi proses pendidikan dan penelitian secara berkelanjutan.
4. **Bapak Prof. Dr. Anwar Ramli, SE., M.Si. Sebagai Rektor Universitas Megarezky**, atas motivasi dan arahannya dalam membangun budaya akademik yang unggul dan berdaya saing.
5. **Ibu Dr. apt. Besse Yuliana, S.Si., M.Si. Sebagai Dekan Fakultas Farmasi**, atas kesempatan dan dukungan yang diberikan selama masa studi.
6. **Ibu apt. Nurhikma A, S.Farm., M.Si. Sebagai Ketua Program Studi S1 Farmasi,** atas bimbingan akademik yang berkelanjutan dan inspiratif.
7. **Dosen Pembimbing I Ibu apt. Tenri Ayu Adri, S.Farm., M.Biomed, Dosen Pembimbing II Ibu apt. Widya Ariati, S.Farm., M.Si.** yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan karya tulis ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
8. **Dosen Penguji I Ibu apt. Sri Wahyuningsih, S.Si., M.Si** yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan karya tulis ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
9. **apt. Nurfitria Junita S.Farm., M.Farm. Sebagai Pembimbing Akademik (PA),** atas pendampingan dan bimbingan akademik selama masa studi penulis
10. **Seluruh Dosen Dan Staf Akademik Universitas Megarezky**, atas ilmu, perhatian, dan pelayanan yang diberikan selama proses studi.
11. **Universitas Megarezky Makassa**r, atas izin, dukungan, dan kerja samanya selama

pelaksanaan penelitian.

12. **Teman-teman seperjuangan yaitu Jojo, Alifa, Risma, Fitrah, Linda, Dan Dela** yang turut membantu secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan karya ilmiah ini.
13. **Tim Laboratorium** atas bantuan teknis dan fasilitas yang diberikan selama proses penelitian.:

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan karya ilmiah ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan karya ini di masa mendatang. Akhir kata, semoga karya ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca, serta menjadi kontribusi yang berarti dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, 14 Agustus 2025

Grasela

ABSTRAK

Grasela (D1B121186). Uji Aktivitas Antiinflamasi secara Invitro dengan Metode Denaturasi Protein pada Ekstrak Daun Limpasu (*Baccaurea lanceolata*) (Dibimbing oleh Tenri ayu Adri dan Widya Ariati).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi ekstrak daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*) menggunakan metode denaturasi protein secara *in vitro*. Sampel daun limpasu diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%, kemudian diuji aktivitas antiinflamasinya dengan larutan Bovine Serum Albumin (BSA) yang di buat dengan cara pencampuran tris buffer saline (TBS). Mekanisme uji didasarkan pada kemampuan senyawa aktif dalam ekstrak untuk mencegah kerusakan struktur protein akibat pemanasan, yang dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 660 nm.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun limpasu memiliki aktivitas penghambatan denaturasi protein yang bersifat *dose-dependent*. Persentase inhibisi pada konsentrasi 10 ppm sebesar 37,01% dan meningkat hingga 64,58% pada konsentrasi 50 ppm. Tingginya inhibisi bahkan pada konsentrasi rendah mengindikasikan kandungan senyawa bioaktif, seperti flavonoid dan fenolik, yang berperan sebagai antiinflamasi. Sebagai pembanding, kontrol positif natrium diklofenak menunjukkan inhibisi 36,35% pada 10 ppm dan 62,23% pada 50 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak daun limpasu memiliki potensi antiinflamasi yang kuat dan dapat menjadi kandidat sumber bahan obat alami.

Hasil uji inhibisi BSA menunjukkan bahwa ekstrak daun limpasu (Baccaurea lanceolata) memiliki nilai IC50 sebesar 32,59 ppm, hampir setara dengan natrium diklofenak sebagai kontrol positif yang bernilai 32,5 ppm. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun limpasu berpotensi sebagai agen antiinflamasi alami dengan efektivitas yang mendekati obat standar.

Kata Kunci: Denaturasi protein, Ekstrak daun limpasu, Inflamasi.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL..... **Error! Bookmark not defined.**
HALAMAN PENGESAHAN..... iv
KATA PENGANTAR..... v
ABSTRAK..... viii
DAFTAR ISI..... ix
DAFTAR TABEL..... xi
DAFTAR GAMBAR..... xii
DAFTAR LAMPIRAN..... xiii

BAB 1 PENDAHULUAN..... 1

A. Latar Belakang..... 1
B. Rumusan Masalah..... 4
C. Tujuan Penelitian..... 4
D. Manfaat Penelitian..... 4

BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... 5

A. Tanaman Limpasu (Baccaurea lanceolata)..... 5
B. Simplisia..... 8
C. Ekstraksi..... 12
D. Inflamasi..... 16
E. Natrium Diklofenak..... 19
F. Metode in-vitro..... 19
G. Spektrofotometer UV-Vis..... 22
H. Kerangka teori..... 23
I. Kerangka konsep..... 24

BAB III METODE PENELITIAN..... 25

A. Jenis Penelitian..... 25
B. Lokasi dan waktu penelitian..... 25
C. Alat dan Bahan..... 25

D. Populasi Dan Sampel 25

E. Prosedur Kerja 26
F. Analisis Data 28

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 30

A. Hasil Penelitian 30
B. Pembahasan 31

BAB V PENUTUP 42

A. Kesimpulan 42
B. Saran 37

DAFTAR PUSTAKA 43

LAMPIRAN 1 SKEMA KERJA 45

LAMPIRAN 2 PERHITUNGAN 46

LAMPIRAN 3 DOKUMENTASI 50

LAMPIRAN 4 PERSURATAN 50

BIOGRAFI 50

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Persen Rendaman Daun Limpasu..... 29
Tabel 4.2 Hasil Skrining Ekstrak Daun Limpasu..... 29
Tabel 4.3 Hasil Inhibisi BSA Oleh Ekstrak Daun Limpasu..... 30
Tabel 4.3 Hasil Inhibisi BSA Oleh Natrium Diklofenak..... 31

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Limpasu 5
Gambar 2.2 Daun Limpasu..... 6
Gambar 2.3 Bunga Limpasu..... 6
Gambar 3.4 Buah Limpasu..... 7
Gambar 3.5 Biji Limpasu 7
Gambar 2.6 Mekanisme Limpasu 15
Gambar 2.7 Manifestasi Lokal Peredangan Akut..... 17
Gambar 2.8 Kerangka Teoari 22
Gambar 2.9 Kerangka Konsep 23

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Skema Kerja..... 40

Lampiran 2 Perhitungan 42

Lampiran 3 Gambar..... 43

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Inflamasi adalah serangkaian reaksi yang terjadi pada jaringan yang terluka atau terinfeksi. Saat jaringan mengalami infeksi, terjadi respon vaskular dimana cairan, komponen darah, sel darah putih (leukosit) dan mediator kimia menumpuk di tempat kerusakan jaringan atau infeksi .Tanda utama inflamasi adalah kemerahan (rubor), panas (kalor), pembengkakan (tumor) dan nyeri (dolor) (Hadi et al. 2022).

Reaksi inflamasi, baik akut maupun kronis, dapat menyebabkan berbagai macam penyakit. Salah satunya ialah rheumatoid arthritis. Rheumatoid arthritis merupakan penyakit autoimun yang disebabkan oleh inflamasi kronis . Di Indonesia prevalensi yang dilaporkan adalah 7,30%. Menurut *World Health Organization* (WHO), prevalensi penyakit ini mencapai 20 persen populasi dunia (Nindia, Muhaimin, and Elisma 2021).

Suatu obat dikatakan memiliki efek antiinflamasi apabila obat tersebut dapat menekan atau mengurangi reaksi inflamasi. Derajat efektivitas antiinflamasi tergantung pada besarnya kemampuan obat tersebut dalam menyebabkan penurunan udem atau radang. Natrium diklofenak merupakan obat antiinflamasi non-steroid turunan asam fenilasetat yang sering digunakan karena dapat terakumulasi dengan baik pada cairan sinovial dan memiliki durasi efek terapetik di cairan sinovial lebih lama daripada waktu paruh di plasma. Natrium diklofenak bekerja secara nonselektif sebagai

inhibitor COX, yakni menghambat sintesis prostaglandin yang merupakan suatu mediator nyeri (Rizka Nirmala et al. 2023).

Pemberian OAINS (obat antiinflamasi nonsteroid) jangka panjang merupakan salah satu upaya untuk mengurangi inflamasi. Obat antiinflamasi digunakan untuk mengobati nyeri akut dan kronis. Penggunaan OAINS di masyarakat perlu diperhatikan, yakni dengan membatasi penggunaannya pada dosis efektif terendah dan pada durasi penggunaan yang sesuai, dengan mempertimbangkan efek samping yang sering ditemui dari penggunaan OAINS, seperti gangguan saluran cerna, gangguan ginjal dan penyakit kardiovaskuler (Suhaenah et al. 2024).

Efek samping dari penggunaan OAINS (obat antiinflamasi nonsteroid) menjadi salah satu faktor yang menjadi pertimbangan masyarakat saat beralih ke obat tradisional. Masyarakat Indonesia telah lama menggunakan pengobatan tradisional dengan tanaman obat untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Selain banyak tersedia di alam dan kaya kandungan, tanaman obat juga dikatakan minim efek samping (Koesman et al. 2023).

Obat tradisional merupakan bahan atau ramuan yang berupa tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat(Astika, Sani K, and Elisma 2022).

Obat herbal dapat menyembuhkan penyakit dengan efek samping yang minim karna dibuat dari bahan alami, tidak seperti obat sintesis yang dapat

memberikan efek samping secara langsung maupun dalam waktu yang lama.

(Baccaurea lanceolata) yang dikenal oleh masyarakat sebagai limpasu, telah lama digunakan sebagai obat sakit kepala, sakit perut, obat jerawat dan sebagai pengganti asam dalam makanan, serta untuk perawatan kulit dengan cara ditumbuk dan dioleskan pada bagian kulit yang akan terkena sinar matahari Daun limpasu memiliki berbagai senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin Sejalan dengan hasil penelitian ini, yaitu ekstrak etanol daun mempunyai kadar total flavonoid dan fenol tertingg (Miftahul Rochman *et al*., 2023).

Di Desa Tarinding Kecamatan Tabulahan Kabupaten Mamasa, penggunaan daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*) sering digunakan sebagai obat untuk meredakan nyeri sakit kepala, sakit gigi, dan sakit perut.

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. Secara in-vitro uji aktivitas antiinflasi dapat menggunakan metode penghambatan denaturasi protein secara kuantitatif pada umumnya menggunakan spektrofotomerti 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 kuartener dari protein. Kerusakan tersebut disebabkan adanya pemanasan dan zat pendenaturan sehingga fungsi biologis protein menjadi berkurang (Aisyah et al. 2023).

Berdasarkan latar belakang tersebut saya sebai calon peneliti ingin melakukan uji in-vitro antiinflamasi pada ekstrak daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*) dengan metode denaturasi protein.

B. Rumusan Masalah

Apakah ekstrak daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*) memiliki aktivitas antiinflamasi dengan metode denaturasi protein?

C. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi dari ekstrak daun limpasu (*Baccaurea lanceolata)* dengan metode denaturasi protein.

D. Manfaat Penelitian

1. Bagi Mahasiswa

   Penelitian ini diharapkan memberikan informasi bagi peneliti dalam memanfaatkan tanaman limpasu (*Baccaurea lanceolata)* sebagai anti- inflamasi.

2. Bagi Institusi

   Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan referensi bagi institusi dalam menambah produk obat antiinflamasi yang berasal dari bahan alam.

3. Bagi Masyarakat

   Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan baru bagi masyarakat terkait pemanfaatan tanaman limpasu.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Limpasu (*Baccaurea lanceolata*)

1. Klasifikasi tanaman limpasu (*Baccaurea lanceolata*) (Soemarie & Su`aida, 2024):
   Regnum : Plantae
   Divisi : Tracheophyta
   Ordo : Malpighiales
   Kelas :Magnoliopsida
   Famili :Phyllanhaceae
   Genus : *Baccaure*
   Spesies : *Baccaurea lanceolata*

2. Morfologi Tanaman limpasu (*Baccaurea lanceolata*)

   Pohon limpasu adalah salah satu tanaman yang dapat tumbuh hingga ketinggian sekitar 30 meter. Pohon ini memiliki bentuk tegak atau kadang-kadang bercabang seperti candelabriform.



Gambar 2.1 Tanaman limpasu *(Baccaurea lanceolata)*
(Data pribadi)

Daun limpasu berbentuk elips hingga jorong dan memiliki berbagai ukuran dengan panjang sekitar 9,2 hingga 45 cm, dan lebar sekitar 3,7 hingga 26,5 cm. Daun limpasu memiliki tekstur kertas dan berwarna hijau keabu-abuan hingga hijau kecokelatan saat kering. Di bawah permukaan daun, terdapat sekitar 6 hingga 13 urat per sisi.



Gambar 2.2 Daun limpasu *(Baccaurea lanceolata*) (Data pribadi)

Bunga limpasu memiliki bunga yang terbagi menjadi bunga staminate (jantan) dan bunga pistilate (betina). Infloresens bunga jantan muncul dari batang dan dapat berbentuk kumpulan yang banyak bersama-sama, dengan panjang hingga sekitar 18 cm. Bunga staminate berdiameter sekitar 2 hingga 7 mm dan dapat memiliki warna kuning, merah muda, ungu, atau putih krim. Bunga betina juga muncul dari batang dan berbentuk sedikit bersama-sama, dengan panjang hingga sekitar 33 hingga 50 cm. Bunga pistilate berdiameter sekitar 3,5 hingga 10 mm dan berwarna kuning, oranye, ungu, krem kemerahan, atau putih.



Gambar 2.3 Bunga limpasu *(Baccaurea lanceolata)*
(Data pribadi)

Buah limpasu berbentuk bola hingga elipsoid. Buah ini berukuran sekitar 38 mm dalam diameter dan hingga 60 mm saat segar. Setelah kering, ukuran

buahnya menjadi sekitar 24 hingga 54 mm dalam panjang, 16,5 hingga 41 mm dalam lebar, dan 16,5 hingga 41 mm dalam tinggi. Buahnya dapat berwarna hijau, kuning, keabu-abuan, atau cokelat. Bagian luar dan dalam buahnya halus (glabrous).



Gambar 2.4 Buah limpasu *(Baccaurea lanceolata)*
(Data pribadi)

Biji dan ariloid: biji buah limpasu memiliki panjang sekitar 12.2 hingga 26 mm dan lebar 8 hingga 15 mm serta ketebalan sekitar 4,8 hingga 9 mm. Ariloid pada biji berwarna putih hingga abu- abu dan bersifat transparan (Soemarie *et al.,*2023).



Gambar 2.5 Biji limpasu *(Baccaurea lanceolata*)
(Data pribadi)

3. Kandungan tanaman limpasu

Tanaman limpasu (*Baccaurea lanceolata*) merupakan tanaman yang mempunyai banyak khasiat pada seluruh bagian tanamannya. Tanaman limpasu

mempunyai lebih dari satu jenis zat bioaktif yang terdapat pada tanaman limpasu senyawa tersebut alkaloid, steroid, flavonoid, triterpenoid, karotenoid, tanin, dan saponin (Sani et al., 2018).

B. Simplisia

Simplisia merupakan bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Tahapan dalam pengolahan simplisia meliputi pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucuian, pengubahan bentuk, pengeringan, sortasi kering dan pengemasan dan simplisia yang dihasilkan harus diuji mutunya dan disesuaikan dengan persyaratan tanaman obat berdasarkan Meteria Medika Indonesia (MMI) (Riyani *et al*., 2022).

Penggolongan simplisia dibagi menjadi tiga golongan berdasarkan asal bahan bakunya (Maslahah, 2024):

1. Simplisia nabati

   Berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan, eksudat tumbuhan atau gabungan antara ketiganya. Eksudat tumbuhan sendiri merupakan isi sel dari tanaman yang keluar secara spontan atau dengan suatu cara sengaja dilepaskan dari sel. Simplisia nabati biasa dikenal masyarakat awam dengan tanaman obat. Tanaman obat sendiri adalah tanaman yang memiliki khasiat menyembuhkan maupun pencegahan penyakit.

2. Simplisia hewani

   Simplisia hewani merupakan hewan utuh atau zat bermanfaat yang

diproduksinya dan masih berupa bahan kimia campuran.

3. Simplisia pelikan atau mineral

Merupakan bahan mineral atau pelikan yang belum mengalami proses pengolahan atau yang telah mengalami proses pengolahan sederhan dan masih berupa bahan kimia campuran.

Pemanenan bahan baku untuk pembuatan simplisia sangat menentukan kualitas simplisia yang dihasilkan. Pemanenan ini bertujuan untuk mengumpulkan bahan-bahan untuk pembuatan simplisia yang diharapkan dapat menghasilkan simplisia dengan kandungan zat aktif yang diinginkan dalam hal ini kadar zat aktif yang teroptimum, sehingga proses ini sangat menentukan kualitas/mutu simplisia. Berikut tahapan-tahapan pembuatan simplisia secara garis besar (Ahmad & Ambarwati, 2024):

1. Pengumpulan bahan baku

Proses pengumpulan bahan baku sangat penting untuk diperhatikan karena bahan aktif yang terkandung dalam simplisia berbeda-beda yang tergantung pada waktu panen,bagian tanaman yang digunakan kondisi lingkungan tempat tumbuh dan umur tanaman pada saat panen.

2. Sortasi basah

Sortasi basah melibatkan pemilahan tanaman selagi masih segar. Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan pengotor atau pengotor lain dari yang sederhana. Misalnya pada bahan sederhana yang terbuat dari akar tanaman obat, kotoran seperti tanah, kerikil, rumput, batang rusak, daun, akar dan kotoran lainnya harus dihilangkan.

3. Pencucian

Proses pencucian simplisia dimaksudkan untuk membersihkan kotoran-kotoran yang menempel terutama bahan-bahan dari dalam tanah serta bahan-bahan yang terkontaminasi pestisida. Setelah disortir, simplisia dibersihkan dengan cara dicuci. Pencucian pada produksi Simplisia dilakukan dengan air bersih yang mengalir. Tujuan pencucian pada proses penyederhanaan adalah untuk menghilangkan kotoran dan kotoran dari yang sederhana. Setelah dicuci, bahan dikeringkan di udara untuk mengurangi retensi air.

4. Perajangan/pengubahan bentuk

Pada dasarnya tujuan pembentukan kembali hanyalah untuk menambah luas permukaan bahan baku. Semakin besar permukaannya, semakin cepat bahan tersebut mengering. Proses pengubahan bentuk rimpang, daun dan herba adalah pencacahan. Beberapa jenis hanya harus melalui proses pemotongan. Pengirisan bahan Simplisia dilakukan untuk memudahkan proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Tanaman yang baru dipetik sebaiknya tidak langsung dipotong, melainkan dijemur di bawah sinar matahari selama 1 hari. Pemotongan dapat dilakukan dengan pisau, dengan pemotong khusus. Semakin halus bahan yang akan dikeringkan maka semakin cepat airnya menguap sehingga semakin cepat pula waktu pengeringannya. Namun irisan yang terlalu tipis juga dapat menyebabkan berkurangnya atau hilangnya nutrisi yang mudah menguap sehingga mempengaruhi komposisi, bau dan rasa yang diinginkan. Oleh karena itu, bahan sederhana seperti temulawak, temu giring, jahe, kencur dan bahan sejenis lainnya tidak boleh dicincang terlalu halus untuk

menghindari kekurangan kandungan minyak atsiri. Pengeringan sebelum pemotongan diperlukan untuk mengurangi pewarnaan yang disebabkan oleh reaksi antara bahan dan logam mata pisau. Pengeringan dilakukan di bawah sinar matahari.

5. Pengeringan

Proses pengeringan dalam pembuatan simplisia bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam simplisia. Simplisia yang baru dipanen biasanya memiliki kadar air 60-80%. Kandungan air yang tinggi pada simplisia dapat membuat simplisia mudah dijajah oleh jamur atau kapang. Selain itu, dengan tingginya kandungan air pada simplisia, dapat terjadi reaksi enzymatik yang merusak kandungan zat gizi aktif yang kita inginkan. Beberapa cara yang dapat dilakukan untuk mengeringkan simplisia adalah dengan cara, memasukkan ke dalam lemari pengering/oven dan juga dapat dijemur di bawah sinar matahari (baik langsung maupun tidak langsung).

Suhu pengeringan tergantung pada bahan simplisia dan cara pengeringannya. Bahan baku simplisia dapat dikeringkan pada suhu 30-90°c, namun suhu terbaik tidak boleh melebihi 60°c. Bahan simplisia yang mengandung senyawa aktif yang tidak tahan panas atau mudah menguap dikeringkan pada suhu serendah mungkin, misalnya antara 30 dan 45°c, atau dengan pengeringan vakum, yaitu mengurangi tekanan udara dalam ruang pengering atau oven, hingga mengurangi tekanan hingga sekitar 5 mmHg. Kadar air juga tergantung pada bahan simplisia, cara pengeringan dan tahapan pengeringan. Kadar air akan menurun selama proses pengeringan.

6. Sortasi kering

Sortasi setelah pengeringan sebenarnya merupakan tahap akhir dalam pembuatan simplisia. Tujuan dari penyortiran adalah untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor lainnya yang masih ada dan tersisa pada simplisia kering. Proses ini dilakukan sebelum yang sederhana dikemas untuk disimpan nanti. Seperti halnya penyortiran aslinya, penyortiran di sini dapat dilakukan secara mekanis. Sederhananya, rimpangnya terlalu besar dan sebaiknya dibuang. Dengan cara ini, semua sisa pasir, besi dan bahan tanah lainnya harus dihilangkan sebelum dilakukan pembungkusan sederhana.

7. Pengepakan dan penyimpanan

Setelah pengeringan dan grading selesai, sebaiknya simplisia ditempatkan pada wadah tersendiri agar simplisia tidak tercampur satu sama lain. Simplisia dapat rusak, menurun atau berubah mutunya karena faktor luar dan dalam antara lain cahaya, oksigen, reaksi kimia dalam, dehidrasi, penyerapan air, kotoran, serangga dan kapang.

C. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu metode pemisahan suatu zat yang didasarkan pada perbedaan kelarutan terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda, biasanya yaitu air dan yang lainnya berupa pelarut organik. Ada beberapa metode yang dapat dilakukan dalam ekstraksi, salah satu yang paling umum dilakukan adalah metode maserasi. Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang paling umum dilakukan dengan cara memasukkan serbuk

tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam suatu wadah inert yang ditutup rapat pada suhu kamar*(Badaring et al.*, 2020).

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia. Ekstrak tumbuhan obat yang dibuat dari simplisia, dapat digunakan sebagai bahan awal, bahan antara atau bahan produk jadi. Untuk itu ekstrak yang dibuat harus memenuhi standar mutu, salah satunya adalah penyimpanan ekstrak (Riyanto & Haryanto, 2023).

Metode ekstraksi dibagi menjadi dua macam yaitu ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas. Ekstraksi cara dingin pada prinsipnya tidak memerlukan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung bertujuan agar senyawa yang diinginkan tidak menjadi rusak. Sedangkan ekstraksi cara panas melibatkan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung bertujuan agar mempercepat proses ekstraksi. Beberapa metode ekstraksi yang umum digunakan antara lain: maserasi, perkolasi, refluks, sokhletasi, infundasi, dekok,destilasi (Mona & Aprilia, 2023).

a. Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut dengan pengadukan secara berulang pada temperatur ruangan. Metode ini memiliki keuntungan yaitu efektif pada senyawa yang tidak tahan terhadap panas, peralatan yang digunakan sederhana dan mudah didapat. Kekurangan metode ini yaitu pelarut yang digunakan dalam jumlah banyak dan memerlukan waktu ekstraksi lama.

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru sampai hasil sempurna pada temperatur ruangan. Proses ini terdiri dari tahap pengembangan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi terus-menerus sampai didapatkan sebuah ekstrak. Keuntungan metode ini yaitu tidak memerlukan proses tambahan dalam memisahkan padatan dan ekstrak, namun metode ini juga memiliki kekurangan memerlukan waktu yang lama.

c. Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi pelarut dengan temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan proses pengulangan pada residu pertama sebanyak 3-5 sehingga didapatkan ekstraksi yang optimal. Kelebihan metode ini yaitu dapat mengekstrak padatan dengan tekstur yang kasar dan tahan terhadap panas, sedangkan kelemahannya yaitu metode ini membutuhkan jumlah pelarut relatif banyak.

d. Sokletasi

Sokletasi merupakan ekstraksi yang menggunakan pelarut yang selalu baru dan dilakukan dengan alat khusus sehingga akan terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan. Kelebihan metode ini yaitu proses ekstraksi terjadi secara kontinu, waktu dan pelarut yang digunakan lebih sedikit dibandingkan pada metode maserasi dan perkolasi. Kekurangan metode ini dapat merusak

komponen yang tidak tahan oleh panas, karena metode ini dilakukan pemanasan ekstrak secara terus

e. Infundasi

Infudasi merupakan ekstraksi pelarut air yang umumnya dilakukan untuk menyaring zat kandungan aktif yang larut air dari bahan- bahan nabati. Metode ini menggunakan temperatur 96-98°C dengan waktu 15-20 menit. Metode ini dapat digunakan untuk senyawa yang tahan terhadap pemanasan. Kelebihan metode ini yaitu alat yang digunakan mudah dan sederhana, sedangkan kelemahannya zat-zat yang tertarik dapat mengendap jika kelarutannya telah dingin atau lewat jenuh

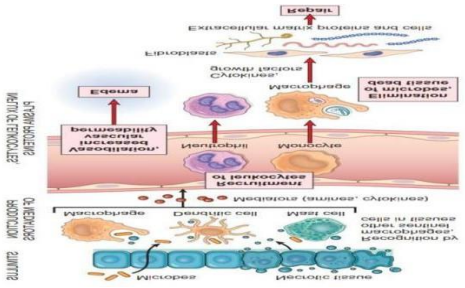
f. Dekok

Dekok merupakan proses ekstraksi yang hampir sama dengan metode infundasi. Bahan pada proses ini membutuhkan waktu yang lebih lama dan temperatur titik didih air, yaitu selama 30 menit pada temperatur 90- 100°C. Metode ini telah jarang digunakan dikarenakan proses penyaringan yang diperoleh kurang sempurna dan tidakmampu mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil atau tidak tahan terhadap panas (Mona & Aprilia, 2023).

D. Inflamasi

1. Mekanisme inflamasi

Inflamasi adalah respon protektif lokal yang ditimbulkan oleh terjadinya kerusakan jaringan. Reaksi inflamasi ditandai dengan timbulnya kalor (panas), dolor (nyeri), rubor (merah), tumor (pembengkakan), dan penurunan fungsi (*function laesa*). Inflamasi merupakan sebuah respon jaringan vaskularisasi terhadap infeksi dan kerusakan jaringan untuk membersihkan tubuh dari penyebab awal cedera dan konsekuensi dari cedera tersebut. Inflamasi diinduksi oleh berbagi mediator kimia yang diproduksi oleh sel inang sebagai respon terhadap rangsangan.



Gambar 2.6 Mekanisme Inflamasi

Gambar 2.6 menggambarkan patofisiologi terjadinya reaksi inflamasi. Patofisiologi inflamasi dimulai ketika mikroba memasuki jaringan tubuh atau ketika adanya cedera pada jaringan yang menyebabkan infeksi atau kerusakan jaringan. Hal tersebut kemudian dikenali oleh sel residen seperti makrofag, sel dendritik, sel mast dan sel-sel lain dalam jaringan, kemudian sel-sel tersebut akan melepaskan mediator inflamasi yang akan memicu reaksi vaskular dan reaksi seluler. Mediator inflamasi juga dihasilkan dari protein plasma yang bereaksi terhadap mikroba atau jaringan yang rusak. Protein plasma ini disintesis

di hati yang konsentrasinya dapat meningkat sebagai bagian dari respon terhadap rangsangan inflamasi, protein plasma tersebut diantaranya yaitu *C-reactive protein* (CRP),*fibrinogen,* dan *serum amyloid A* (SAA). Mediator inflamasi akan memicu vasodilatasi, peningkatan permeabilitas vaskuler dan perekrutan leukosit yang akan bersirkulasi ke tempat agen penyebab inflamasi. Mediator inflamasi kemudian juga mengaktifkan leukosit untuk menghancurkan dan menghilangkan agen penyebab inflamasi.

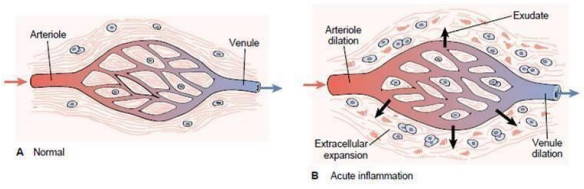
Secara umum terdapat 2 tahapan dalam proses inflamasi, yaitu :

a. Tahap vaskular

Pada tahap vaskuler terjadi reaksi vasodilatasi yang akan meningkatkan aliran darah dan permeabilitas vaskuler. Vasodilatasi yang terjadi akan menyebabkan peningkatan aliran darah pada daerah yang mengalami cedera dan akan memberikan warna merah (rubor) dan rasa panas (kalor). Peningkatan permeabilitas vaskuler diinduksi oleh histamin, kinin dan mediator inflamasi lain yang kemudian menyebabkan cairan yang kaya akan protein dan sel darah keluar ke jaringan ekstravaskuler. Hal tersebut akan mengakibatkan tekanan osmotik cairan interstisium meningkat, sehingga lebih banyak air yang keluar dari darah ke dalam jaringan. Hasil akumulasi cairan ekstravaskuler yang terjadi akan menyebabkan edema jaringan. Timbulnya edema menyebabkan rasa nyeri karena peregangan jaringan akibat timbulnya edema dan adanya pengeluaran mediator nyeri seperti prostaglandin, bradikinin, dan histamin yang bisa merangsang saraf perifer di sekitar jaringan yang mengalami inflamasi. Timbulnya edema dan rasa nyeri

membuat keterbatasan gerak atau gangguan fungsi pada daerah sekitar inflamasi.

Gambar 2.8 menjelaskan perbedaan antara pembuluh darah jaringan normal dan jaringan yang mengalami peradangan. Pembuluh darah pada jaringan yang mengalami peradangan terjadi vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas vaskuler sehingga menyebabkan neutrofil dan cairan protein plasma keluar dari pembuluh darah. Penumpukan cairan protein plasma pada ekstravaskuler tersebut akan menimbulkan edema.



Gambar 2.7 Manifetasi Lokal Peradangan Akut.

b. Tahap seluler

Pada tahap seluler terjadi pengumpulandan pengaktifan leukosit yang kemudian akan mengeliminasi agen berbahaya. Leukosit dibawa dari darah ke jaringan ekstravaskular dimana patogen infeksius atau jaringan yang rusak dapat ditemukan. Setelah leukosit terkumpul, leukosit diaktifkan untuk menjalankan fungsinya yang mengakibatkan peningkatan fungsi fagositosis, produksi mediator inflamasi termasuk asam arakidonat, sitokin pro-inflamasi, serta peningkatan destruksi intrasel mikroba dan jaringan mati yang telah difagosit.

E. Natrium Diklofenak

Natrium diklofenak adalah sebuah obat yang tergolong antiinflamasi nonsteroid, berfungsi sebagai zat aktif yang memberikan efek sebagai pereda nyeri, penurun suhu tubuh, serta antiinflamasi. Cara natrium diklofenak bekerja adalah dengan menghalangi produksi prostaglandin, yang berperan dalam menimbulkan rasa sakit. Obat ini mempunyai waktu paruh yang cukup singkat, berkisar 1-2 jam, dan digunakan untuk mengatasi kondisi rematik. Penyakit rematik umumnya menjangkiti orang tua yang sering lupa untuk mengonsumsi obat pada waktu yang seharusnya, sehingga hal ini mengakibatkan kurangnya kepatuhan dalam mengonsumsi obat(Agustin & Ratih, 2015).

Natrium diklofenak merupakan turunan dari asam fenilasetat yang secara khusus dirancang sebagai obat antiinflamasi. Natrium diklofenak termasuk dalam kelompok arilalkanoat, yaitu obat yang termasuk dalam kategori nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) yang dipakai oleh masyarakat sebagai salah satu pengobatan untuk artritis rematoid, osteoartritis, ankilosa, spondilitis, serta peradangan pada mata (Rustiah et al., 2023).

F. Metode in-vitro

Sekitar 70% populasi dunia mengandalkan obat herbal sebagai pengobatan utama untuk menjaga kesehatan. Salah satu cara untuk menilai efektivitas obat-obatan potensial di luar tubuh organisme hidup adalah melalui uji in-vitro. Metode ini dapat diterapkan pada kultur bakteri, sel-sel yang telah diisolasi, maupun organ yang diambil dan diuji secara terpisah. Jika hasil yang didapatkan

menunjukkan hasil positif, maka pengujian dilanjutkan ke tahap in-vivo. Pengujian in-vitro memiliki sejumlah keunggulan, seperti waktu pelaksanaan yang lebih cepat, penggunaan jumlah sampel yang lebih sedikit, serta tidak melibatkan hewan percobaan. Pengujian in-vitro bertujuan untuk menyaring sampel yang berpotensi dikembangkan sebagai obat. Salah satu metode in-vitro yang dapat dimanfaatkan adalah teknik penghambatan denaturasi protein(Firdaus et al., 2024).

Denaturasi protein adalah proses perubahan pada struktur sekunder dan tersier protein atau asam nukleat. Proses ini dapat mengakibatkan gangguan metabolisme serta kerusakan pada sel. Denaturasi protein juga diketahui sebagai salah satu faktor penyebab terjadinya inflamasi. Umumnya, denaturasi dilakukan melalui pemanasan, yang dianggap sebagai metode efektif karena tidak bersifat asam dan relatif murah. Senyawa yang mampu mencegah terjadinya denaturasi protein berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antiinflamasi.

Aktivitas denaturasi protein dinyatakan dalam bentuk persentase penghambatan, di mana jika nilai penghambatannya melebihi 20%, maka sampel tersebut dianggap memiliki sifat antiinflamasi. Larutan Bovine Serum Albumin (BSA) digunakan sebagai komponen utama dalam pengujian efek antiinflamasi terhadap denaturasi protein. Penggunaan BSA bertujuan untuk meminimalkan keterlibatan organisme biologis dalam proses pengembangan obat. Protein BSA akan mengalami denaturasi, yaitu perubahan pada struktur primer dan sekunder, ketika dipanaskan. Proses ini menjadi fokus utama dalam uji antiinflamasi secara in-vitro. Setelah mengalami denaturasi, protein akan menunjukkan beberapa perubahan, salah satunya adalah perubahan warna dari bening menjadi keruh atau

putih(Wulandari & Rosalinda, 2022).

Senyawa alami yang memiliki aktivitas antiinflamasi mampu mencegah denaturasi protein, sehingga struktur protein tetap terjaga dan tidak mengalami kerusakan. Efek ini dapat diamati melalui perubahan warna sampel setelah proses pemanasan. Semakin keruh atau putih warna sampel, menandakan bahwa denaturasi protein telah terjadi. Sebaliknya, jika sampel tetap bening atau hanya mengalami sedikit perubahan warna, hal ini menunjukkan bahwa protein tetap stabil dan tidak terdenaturasi. Perubahan tersebut dapat dianalisis dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang 660 nm menggunakan spektroskopi UV-Vis. Data absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung persentase penghambatan. Apabila nilai penghambatan melebihi 20%, maka sampel tersebut dianggap memiliki aktivitas antiinflamasi.

Flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin yang termasuk dalam kelompok metabolit sekunder diketahui memiliki kemampuan untuk menghambat proses denaturasi protein. Metabolit sekunder mampu menghambat pembentukan prostaglandin, yaitu senyawa yang berperan dalam meningkatkan aliran darah ke area yang mengalami peradangan serta mengaktifkan reseptor nyeri. Metabolit sekunder, seperti senyawa flavonoid, dapat menempel pada albumin dan membuat protein menjadi lebih stabil, sehingga mencegah terjadinya denaturasi ketika terkena panas. Fenomena ini terjadi karena adanya interaksi antara cincin aromatik dan gugus hidroksil pada senyawa flavonoid dengan residu asam amino yang terdapat dalam rantai protein(Yuniati et al., 2024).

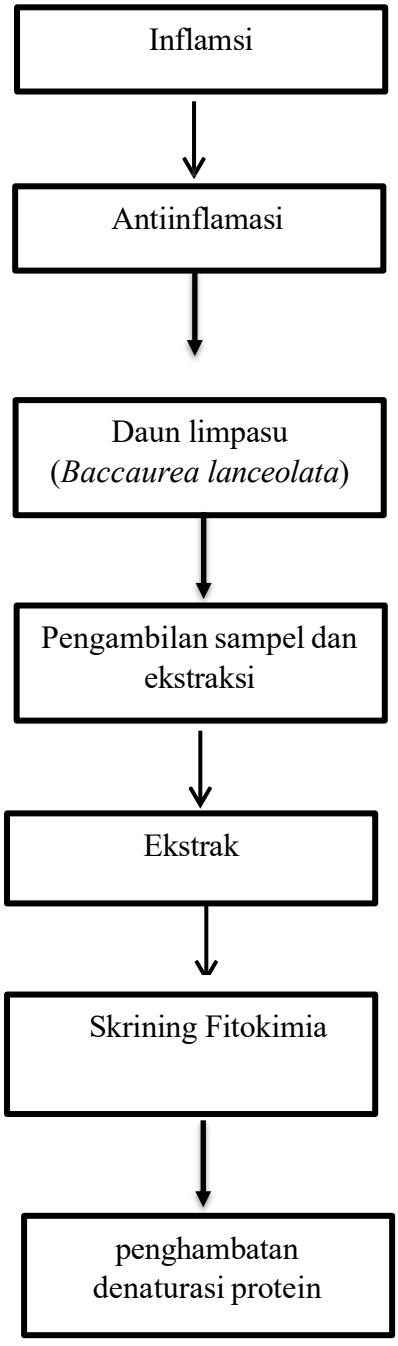
G. Spektrofotometer UV-Vis

Salah satu alat yang paling umum digunakan dalam analisis kimia adalah spektrofotometer UV-Vis, yang bekerja dengan mengukur absorbansi cahaya foton. Sebelum pengukuran, sampel harus dipersiapkan agar dapat menyerap cahaya dalam rentang panjang gelombang UV-Vis (200–700 nm). Proses persiapan ini dapat melibatkan penambahan reagen untuk membentuk garam kompleks. Persyaratan sampel yang diuji menggunakan spektrofotometri UV-Vis antara lain (Handoyo Sahumena et al., 2020) :

a. Mengandung gugus kromofor
b. Berwarna meskipun tidak memiliki gugus kromofor
c. Penambahan pereaksi pewarna pada sampel yang tidak memiliki gugus kromofor (metode vis)
d. Sampel yang tidak mengandung kromofor diubah menjadi turunan yang memiliki gugus kromofor (metode uv).

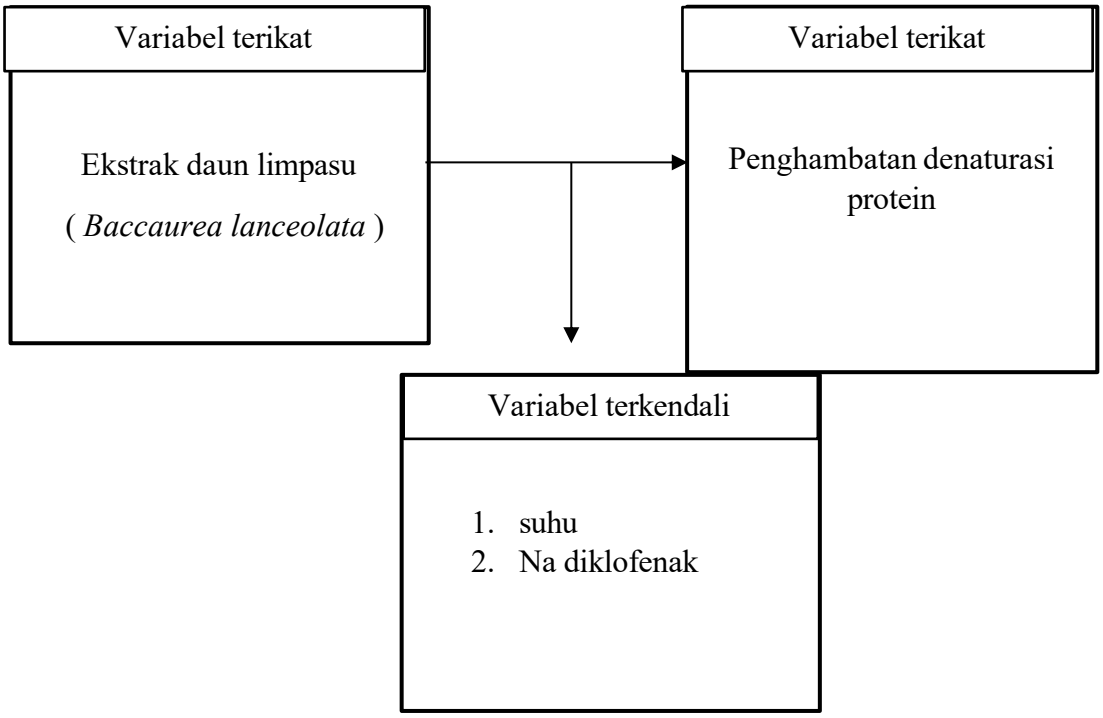
Spektrofotometer single beam dan double beam merupakan dua jenis alat spektrofotometri UV-Vis yang paling sering digunakan. Instrumen single-beam memungkinkan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang tunggal secara kuantitatif. Keunggulan dari spektrofotometer single-beam meliputi kemudahan penggunaan, biaya yang lebih rendah, dan efisiensi dalam pengeluaran. Di sisi lain, spektrofotometer double-beam membagi sinar menjadi dua dengan menggunakan cermin berbentuk V. Sinar pertama melewati sampel, sementara sinar kedua melewati larutan blanko secara bersamaan (Handoyo Sahumena et al., 2020).

H. Kerangka teori



Gambar 2.8 kerangka teori

I. Kerangka konsep



Gambar 2.9 Kerangka konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang diterapkan dalam penelitian ini ialah eksperimen laboratorium, yang menggunakan bagian daun limpasu *(Baccaurea lanceolata)* sebagai sampel yang diuji coba dengan metode denaturasi protein.

B. Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi farmasi, Laboratorium kimia Farmasi dan Laboratorium Instrumen Universitas Megarezky Makassar pada bulan Juni 2025 sampai Juli 2025.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

   Adapun alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi batang pengaduk, blender (Cosmos), botol vial, cawan porselin, erlenmeyer, hotplate, instrumen spektrofotometri UV-Vis (Orion AQUAMATE 8000), kuvet, labu ukur (5 ml, 25 ml) (Iwaki), lumpang dan alu, mikro pipet, pH meter, pipet volume, rak tabung reaksi, rotary evaporator, spatula, tabung reaksi, termometer, serta timbangan analitik (AND).

2. Bahan

   Adapun bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi aquades, asam asetat, bovine serum albumin (BSA), daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*), etanol 96%, $FeCl_3$, HCl pekat, logam Mg, NaCl (Merck), pereaksi Wagner, serta tris buffer saline (TBS) (Bio Gear) glasial, propilen glikol, natrium tripolifosfat.

D. Populasi sampel

1. Populasi

   Populasi pada penelitian ini adalah tanaman limpasu *(Baccaurea lanceolata)* yang di ambil di kec. Tabulahan, Kab. Mamasa, Sulawesi Barat.

2. Sampel

   Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ekstrak daun limpasu *(Baccaurea lanceolata)*

E. Prosedur Kerja

1. Penyiapan simplisia daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*) (Hartini *et al.,*, 2016)

   Sampel diambil pada jam 8 pagi hingga selesai, kemudian dilakukan sortasi basah untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya setelah itu dilakukan pencucian untuk menghilangkan tanah dan kotoran lainnya, dilakukan perajangan, pengeringan lalu dilakukan sortasi kering kemudian diserbukkan dengan blender. Simplisia dimasukkan ke dalam wadah.

2. Ekstraksi (Klau *et al*., 2022)

   Ditimbang serbuk simplisia sebanyak 500 mg kemudian disiapkan pelarut yang digunakan yaitu etanol 96% sebanyak 3,5 L. Dimasukan serbuk simplisia yang sudah ditimbang ke dalam toples kaca dan menambahkan pelarut etanol 96% sedikit demi sedikit sambil diaduk. Setelah itu serbuk simplisia yang sudah tercampur dengan etanol 96% dilakukan perendaman selama 3 x 24 jam, dan diaduk sesekali, setelah proses perendaman selesai, langkah selanjutnya disaring

maserat dari ampas menggunakan corong buchner dengan hati-hati. Maserat di uapkan menggunakan rotari evaporator dengan suhu 30-40ºc sehingga akan diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang dihasilkan ditimbang bobotnya menggunakan timbangan digital.

1. Pembuatan larutan TBS *(Trus Buffer Saline)*

   Dilarutkan 4,35 gram NaCL kedalam aquades 200ml Ditambah 605 mg tris buffer serta 200 mL aquadest ditambahkan asam asetat glasial Ditambahkan 100 mL aquades.

2. Pembuatan 0,2% (bovine serum albumin

   Dilarutkan BSA (bovine serum albumin) dengan 100 mL larutan tris buffer saline.

3. Pembuatan larutan kontrol negatif

   Sebanyak 50 µL etanol ditimbang 0,5 larutan BSA hingga diperoleh volome 5 mL.

4. Pembuatan larutan kontrol positif .

   Diambil sebanyak 50 mg ekstrak limpasu kemudian dilarutkan etanol 20 ml. diencerkan larutan menjadi 10, 20, 30, 40, 50 ,75 dan 100 ppm.

5. Pengujian aktivitas antiinflamasi larutan uji

   Ditambahkan 0,2% BSA hinnga volume mencapai 5 ml, masing-masing konstrasi akan menghasilkan 10,20,30,40,50,75 dan 100 ppm,kemudian diinkubasi pada suhu 37°c selama 15 menit. Lalu dilakukan pemanasan selama 5 menit di suhu 70°c kemudian didiamkan hingga dingin., Larutan dikocok dengan kuat,Dilakukan pengukuran spekttofotometri UV- Vis absorsi dengan

panjang gelombang 660nm.

F. Analisis Data

Dalam penelitian ini olahan data diperoleh dari analisis mengetahui aktivitas antiinflamasi secara invitro dengan menggunakan metode denaturasi protein pada ekstrak daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*) Data yang diperoleh dari pengujian dianalisis secara kuantitatif untuk mengetahui tingkat aktivitas antiinflamasi ekstrak. Setiap pengukuran dilakukan dalam tiga kali pengulangan, kemudian dicatat dan dihitung nilai rata-ratanya. Nilai rata-rata tersebut digunakan untuk menentukan persentase penghambatan berdasarkan perbandingan antara sampel uji dan kontrol, Persentase penghambatan yang diperoleh pada setiap variasi konsentrasi digunakan untuk melihat hubungan antara konsentrasi dan tingkat aktivitas yang dihasilkan.

G. Perhitungan LC_{50}

Perhitungan IC_{50} dilakukan dengan metode interpolasi linear antara dua konsentrasi bertetangga yang membatasi nilai 50% inhibisi. Metode ini dipilih karena sederhana dan sesuai apabila persentase inhibisi pada konsentrasi terendah kurang dari 50% dan pada konsentrasi tertinggi lebih dari 50%.

1. Susun data hasil uji sebagai pasangan (konsentrasi, persentase inhibisi) dan hitung rata-rata persentase inhibisi untuk tiap konsentrasi dari pengulangan yang tersedia.
2. Tentukan dua konsentrasi bertetangga C1 dan C2 sehingga persentase inhibisi pada C1 (M1)B kurang dari 50% dan pada C2 (M2) lebih dari 50%.
3. Hitung IC_{50} dengan interpolasi linear menggunakan rumus di bawah.

$$IC_{50} = C_1 + \frac{(50-M_1)}{(M_2-M_1)} \times (C_2 - C_1)$$

Keterangan :

C1 : konsentrasi lebih rendah (di bawah 50%)

C2: konsentrasi lebih tinggi (di atas 50%)

M1: rata-rata presentase inhibisi pada C1

M2 : rata-rata presentase inhibisi pada C2

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

4. Hasil rendamen ekstrak daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*)

Tabel 4.1
Persen rendamen daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*)

Bobot sampel (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendamen (%)
600	68,57	11,42

5. Hasil skrining ekstrak daun limpasu (*Bacaurea lanceolata*)

Tabel 4.2.
Persen rendamen daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*)

Senyawa	Keterangan	Hasil Uji fitokimia
Flavonoid	+	Orange kekuningan
Alkaloid	+	Warna kecoklatan
Saponin	+	Busa yang terbentuk tidak hilang
Tanin	+	Warna biru tua atau hijau kehitaman

6. Hasil %inhibisi BSA oleh ekstrak daun limpasu

Tabel 4.3.
%inhibisi BSA oleh ekstrak daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*)

Konsentrasi (ppm)		Pengulangan			Rata-rata absorbansi	%inhibisi	IC_{50}
		1	2	3			
10	(Fadillahturrahman, 2022)	0.8639	0.8641	0.8642	0.864	37.01%	32,59
20		0.8174	0.8173	0.8172	0.8173	40.42%	
30		0.7459	0.746	0.6452	0.7123	48.07%	
40		0.6172	0.6162	0.5977	0.6103	55.51%	
50		0.5154	0.5014	0.4408	0.4858	64.58%	
Blanko		1,3661	1,3718	1,37183333			

7. Hasil % inhibisi natrium diklofenak

Tabel 4.4.
% inhibisi natrium diklofenak

Konsentrasi (ppm)		Pengulangan			Rata-rata absorbansi	%inhibisi	IC_{50}
		1	2	3			
10	(Fadillahturrahman, 2022)	0.8716	0.8742	0.8737	0.864	36.3503827	32,5
20		0.8115	0.8118	0.816	0.8173	40,83586442	
30		0.7169	0.7168	0.7169	0.7123	47,74389503	
40		0.6325	0.6201	0.5195	0.6161	54,59360952	
50		0.5195	0.5192	0.5134	0.4858	62,28647795	
Blanko		1,3661	1,3718	1,37183333			

B. Pembahasan

Proses ekstraksi yang di gunakan pada penelitian ini ialah maserasi. Untuk mendapatkan kandungan senyawa-senyawa yang terdapat dalam limpasu, langkah pertama yang dilakukan adalah mengekstrak tanaman yang mengandung senyawa. Proses ekstraksi sendiri merupakan metode pemisahan suatu zat dengan memanfaatkan perbedaan tingkat kelarutan zat tersebut dalam dua jenis pelarut yang tidak saling bercampur. Maserasi dilakukan pada suhu ruang atau tanpa pemanasan, sehingga prosesnya menjadi lebih mudah dilakukan. Selain itu, metode ini juga membutuhkan peralatan yang lebih sederhana dan biaya operasional yang lebih rendah. Minyak atsiri kemudian akan ikut mengalir bersama uap menuju kondensor. Pelarut yang digunakan adalah etanol yang bersifat polar, sehingga mampu melarutkan senyawa-senyawa polar seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid secara lebih optimal dalam ekstraksi senyawa metabolit sekunder. Pada penelitian ini hasil ekstrak 68,57 g dengan rendamen yang di hasilkan

11,4%. Proses ekstraksi melibatkan kontak antara bahan dengan pelarut. Beberapa faktor yang memengaruhi efektivitas ekstraksi meliputi suhu proses, kecepatan pengadukan, ukuran dan bentuk partikel padat, serta jenis dan volume pelarut yang digunakan. Selama ekstraksi, terjadi perpindahan massa sebagai fenomena fisik utama. Perpindahan ini berlangsung akibat adanya perbedaan konsentrasi antara dua fase, dari konsentrasi yang lebih tinggi menuju yang lebih rendah. Semakin besar selisih konsentrasi tersebut, semakin cepat laju perpindahan massa terjadi hingga tercapai kondisi setimbang.

Skrining fitokimia merupakan tahap awal yang penting dalam penelitian tumbuhan, khususnya jika tujuan utamanya adalah mengidentifikasi senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya. Pada daun limpasu *(Baccaurea lanceolata),* proses ini bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa kimia alami yang mungkin memiliki aktivitas biologis, seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, dan lainnya. Penelitian ini melakukan skrining fitokimia terhadap ekstrak daun limpasu dengan tujuan untuk mengenali dan mengidentifikasi jenis-jenis senyawa bioaktif yang terdapat di dalamnya. Beberapa golongan senyawa yang diuji secara kualitatif meliputi saponin, steroid atau triterpenoid, tanin, flavonoid, dan alkaloid, daun limpasu di reaksikan dengan berbagai pereaksi, flavonoid di reaksikan dengan 0,1 g logam, dan lima tetes HCl pekat, alkaloid direaksikan dengan tiga tetes pereaksi wegner,saponin di reaksikan dengan 10 ml air panas yg di kocok selama 10 menit, kemudian di tambahkan dengan 1 tetes HCl pekat, tanin sampel di panaskan selama 5 menit kemudian di campurkan dengan 5 tetes $FeCl_3$ 1%.hasil skrining yang di dapatkan pada tabel 4.3 yaitu senyawa flavonoid positif

dengan munculnya warna orange kekuningan, senyawa alkaloid positif dengan munculnya warna kecoklatan, pada senyawa saponin positif dengan munculnya busa yang terbentuk tidak hilang, dan pada senyawa tanin positif dengan munculnya warna hijau kehitaman.

Metode untuk menghambat denaturasi protein dengan memanfaatkan Bovine Serum Albumin (BSA) kerap digunakan dalam penelitian aktivitas antiinflamasi. BSA, yaitu sejenis protein albumin yang berasal dari darah sapi, berperan sebagai agen penstabil protein dalam berbagai reaksi enzim. Umumnya, BSA memiliki kisaran pH antara 6,0 hingga 8,5.

BSA dipilih dalam penelitian ini karena ketersediaannya yang melimpah, larut dengan mudah dalam pelarut, biaya yang relatif rendah, serta dapat mengurangi ketergantungan pada penggunaan hewan uji hidup dalam proses penemuan dan pengembangan obat, Kerusakan atau perubahan struktur protein (denaturasi) dapat memicu terjadinya peradangan pada jaringan sel tubuh.

Denaturasi protein adalah proses perubahan struktur sekunder dan tersier protein atau asam nukleat akibat pengaruh tekanan atau zat eksternal. Pendekatan untuk menghambat denaturasi protein dipilih karena sifatnya yang tidak asam, biaya yang rendah, serta prosedurnya yang sederhana dan mudah diterapkan.

Dalam penelitian ini, proses denaturasi dipicu oleh paparan panas. Denaturasi protein berlangsung saat protein BSA mengalami pemanasan, Peningkatan suhu menyebabkan energi kinetik bertambah, membuat molekul-molekul protein bergerak lebih cepat dan mengakibatkan kerusakan pada struktur protein.

Temperatur menjadi salah satu faktor pemicu terjadinya denaturasi protein.

Dalam penelitian ini, BSA dilarutkan menggunakan larutan penyangga Tris Buffer Saline (TBS).

BSA memiliki pH optimum sekitar 7, sehingga digunakan larutan TBS yang memiliki kisaran pH antara 6,25 hingga 6,70. TBS sendiri merupakan campuran dari larutan tris base dan natrium klorida (NaCl).

Pada setelah di lakukan nilai tikat keasaman (pH) di patakan bahwa nilai pH BSA yaitu 6,30 nilai ph ini masuk kedalam rage nilai pH BSA yaitu 6,25 hingga 6,70.

Prinsip penghambatan denaturasi protein dapat diamati melalui interaksi antara larutan sampel dan BSA. Protein dalam tubuh rentan mengalami denaturasi akibat pembentukan radikal bebas, yang kemudian memicu pelepasan mediator inflamasi selama proses peradangan. Aktivitas penghambatan denaturasi protein biasanya dinyatakan dalam bentuk persentase penghambatan. Apabila nilai persentase penghambatan melebihi 20%, hal ini mengindikasikan adanya aktivitas antiinflamasi.

Hasil pengujian persen inhibisi BSA oleh ekstrak daun limpasu (Baccaurea lanceolata) menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan denaturasi protein meningkat seiring dengan kenaikan konsentrasi larutan uji. Pada konsentrasi 10 ppm, persen inhibisi yang dihasilkan adalah 37,01% dan terus meningkat hingga mencapai 64,58% pada konsentrasi 50 ppm. Pola ini menunjukkan bahwa ekstrak daun limpasu memiliki kemampuan menghambat denaturasi BSA secara dose-dependent, di mana peningkatan konsentrasi berbanding lurus dengan peningkatan aktivitas penghambatan. Mekanisme uji ini didasarkan pada kemampuan senyawa

aktif dalam ekstrak untuk menstabilkan struktur protein dan mencegah kerusakan akibat pemanasan atau kondisi stres lainnya, yang secara in vitro sering digunakan sebagai indikator aktivitas anti-inflamasi.

Tingginya nilai persen inhibisi bahkan pada konsentrasi rendah (≥20% pada 10 ppm) mengindikasikan bahwa ekstrak daun limpasu mengandung senyawa bioaktif yang efektif, kemungkinan berasal dari golongan flavonoid atau fenolik, yang dikenal memiliki aktivitas antiinflamasi, Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa beberapa spesies Baccaureamemiliki potensi farmakologis, termasuk kemampuan antioksidan yang berhubungan erat dengan pencegahan denaturasi protein, Bila dibandingkan dengan penelitian tanaman lain yang diuji menggunakan metode serupa, aktivitas penghambatan ekstrak daun limpasu pada konsentrasi tinggi tergolong kuat, menunjukkan potensi besar sebagai kandidat sumber bahan anti-inflamasi alami.

Berdasarkan tabel hasil natrium diklofenak, terlihat adanya pola peningkatan persentase inhibisi seiring dengan meningkatnya konsentrasi sampel yang diuji. Pada konsentrasi terendah (10 ppm), % inhibisi tercatat sebesar 36,35%. Nilai ini menunjukkan kemampuan awal sampel dalam menghambat proses denaturasi protein akibat paparan panas. Saat konsentrasi dinaikkan menjadi 20 ppm, % inhibisi meningkat menjadi 40,83%, yang berarti terjadi penambahan efektivitas penghambatan sebesar ±4,48% dibandingkan konsentrasi sebelumnya. Kenaikan yang lebih signifikan terjadi pada konsentrasi 30 ppm dan 40 ppm, yaitu masing-masing 47,73% dan 54,59%. Hal ini menunjukkan adanya hubungan dose-dependent, di mana jumlah senyawa aktif yang lebih banyak mampu memberikan

perlindungan protein yang lebih tinggi terhadap denaturasi.Persentase inhibisi tertinggi dicapai pada konsentrasi 50 ppm, yaitu 62,23%, yang menunjukkan penghambatan hampir dua kali lipat dibandingkan konsentrasi awal (10 ppm). Pola ini mengindikasikan bahwa konsentrasi berperan penting dalam menentukan efektivitas penghambatan inflamasi secara in vitro. Menurut Gunathilake et al. (2018), peningkatan nilai inhibisi yang konsisten menunjukkan bahwa senyawa aktif bekerja secara kompetitif dengan agen denaturasi untuk mempertahankan struktur protein. Dengan demikian, tingginya % inhibisi pada konsentrasi tinggi mengonfirmasi bahwa sampel memiliki potensi anti-inflamasi yang kuat melalui mekanisme stabilisasi protein.

Persentase inhibisi ekstrak daun limpasu pada metode denaturasi protein menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol positif natrium diklofenak. Hasil ini berkaitan erat dengan keberadaan senyawa metabolit sekunder di dalam ekstrak, yang terdiri atas flavonoid, tanin, polifenol, saponin, dan alkaloid. Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki kemampuan dalam mencegah kerusakan struktur protein melalui berbagai mekanisme, baik dengan menstabilkan protein, melindungi dari kerusakan oksidatif, maupun berperan langsung dalam mengurangi proses inflamasi(Fitriana et al. 2024).

Flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa yang paling banyak berkontribusi dalam aktivitas antiinflamasi. Struktur flavonoid yang kaya akan gugus hidroksil membuatnya mampu berinteraksi dengan protein melalui ikatan hidrogen. Interaksi ini memperkuat stabilitas konformasi protein, sehingga ketika protein dipanaskan pada kondisi denaturasi, kerusakan strukturnya dapat dihambat.

Selain itu, flavonoid juga dikenal sebagai senyawa antioksidan yang sangat baik, karena dapat mendonorkan atom hidrogen atau elektron untuk menetralisir radikal bebas. Dalam konteks uji denaturasi protein, kemampuan antioksidan ini sangat penting karena radikal bebas berperan dalam mempercepat kerusakan struktur protein. Dengan demikian, flavonoid dalam ekstrak daun limpasu memberikan perlindungan ganda, baik melalui stabilisasi protein maupun melalui aktivitas antioksidan(Astika, Sani K, and Elisma 2022).

Selain flavonoid, tanin juga berperan penting dalam meningkatkan persen inhibisi ekstrak. Tanin mempunyai sifat khas yang dapat membentuk kompleks dengan protein. Kompleksasi ini terjadi melalui pembentukan ikatan hidrogen antara gugus hidroksil tanin dengan gugus polar pada protein, serta interaksi hidrofobik dengan rantai samping asam amino non-polar. Akibatnya, struktur protein menjadi lebih stabil dan lebih tahan terhadap denaturasi panas. Mekanisme inilah yang menjelaskan mengapa kehadiran tanin dalam ekstrak turut memperkuat daya inhibisi terhadap denaturasi protein(Fitriana et al. 2024).

Polifenol secara umum juga memberikan kontribusi signifikan terhadap aktivitas antiinflamasi ekstrak daun limpasu. Polifenol bersifat sebagai antioksidan kuat, dengan mekanisme kerja yang mirip dengan flavonoid, yakni mendonorkan elektron untuk menghambat reaksi oksidatif yang dapat merusak protein. Selain itu, polifenol juga dapat mengkelat ion logam yang berperan dalam reaksi oksidasi, sehingga semakin memperkecil kemungkinan terjadinya kerusakan protein akibat radikal bebas. Dengan aktivitas ganda ini, polifenol berperan penting dalam memberikan perlindungan terhadap protein sehingga hasil persen inhibisi yang

dihasilkan ekstrak lebih tinggi(Fadlilaturrahmah et al. 2022).

Saponin yang juga terkandung dalam ekstrak daun limpasu turut memberikan efek antiinflamasi. Senyawa ini bekerja dengan cara menstabilkan membran sel serta memiliki aktivitas antioksidan. Saponin juga dapat menekan pelepasan mediator inflamasi sehingga berkontribusi dalam mengurangi proses peradangan. Pada uji denaturasi protein, keberadaan saponin dapat memperkuat aktivitas stabilisasi protein, meskipun perannya lebih kecil dibandingkan flavonoid dan tanin(Firdaus, Fadli, and Bintari 2024).

Jika dibandingkan dengan natrium diklofenak sebagai kontrol positif, mekanisme yang bekerja jelas berbeda. Natrium diklofenak merupakan obat antiinflamasi nonsteroid (AINS) yang bekerja secara spesifik dengan cara menghambat enzim siklooksigenase (COX), sehingga sintesis prostaglandin sebagai mediator utama inflamasi dapat ditekan. Pada metode denaturasi protein, diklofenak tetap menunjukkan aktivitas inhibisi karena sifat kimianya memungkinkan interaksi dengan protein, tetapi mekanisme utamanya tidak langsung pada stabilisasi protein seperti yang terjadi pada senyawa dalam ekstrak. Hal inilah yang menjelaskan mengapa pada metode ini ekstrak daun limpasu menghasilkan persen inhibisi lebih tinggi dibandingkan kontrol positif(Firdaus, Fadli, and Bintari 2024).

Keunggulan ekstrak daun limpasu dibandingkan kontrol positif tidak hanya terletak pada satu senyawa, melainkan pada keberagaman senyawa bioaktif yang dikandungnya. Interaksi sinergis antar senyawa menyebabkan efek biologis yang lebih besar. Flavonoid, tanin, polifenol, dan saponin bekerja bersama dalam

menstabilkan protein dan mencegah denaturasi, sehingga efek total yang dihasilkan lebih tinggi. Oleh karena itu, tingginya persentase inhibisi ekstrak daun limpasu menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki potensi antiinflamasi yang kuat melalui mekanisme stabilisasi protein dan aktivitas antioksidan, yang terbukti lebih efektif dibandingkan kontrol positif pada metode denaturasi protein(Fitriana et al. 2024).

Berdasarkan hasil penelitian, uji penghambatan denaturasi protein menggunakan metode BSA menunjukkan bahwa ekstrak daun limpasu (Baccaurea lanceolata) mampu memberikan efek inhibisi yang meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi. Pada konsentrasi 10 ppm, ekstrak menghasilkan persen inhibisi sebesar 37,01%, kemudian meningkat berturut-turut pada konsentrasi 20 ppm (40,42%), 30 ppm (48,07%), 40 ppm (55,51%), hingga mencapai 64,58% pada konsentrasi 50 ppm. Pola peningkatan ini menunjukkan adanya hubungan yang linier antara konsentrasi ekstrak dengan persen inhibisi yang dihasilkan (dose-dependent response). Dari hasil perhitungan diperoleh nilai IC50 sebesar 32,59 ppm, yang berarti konsentrasi tersebut sudah mampu menghambat 50% aktivitas denaturasi protein.

Nilai IC50 ekstrak daun limpasu tersebut kemudian dibandingkan dengan natrium diklofenak sebagai kontrol positif. Natrium diklofenak yang digunakan pada konsentrasi uji yang sama menghasilkan persen inhibisi sebesar 36,35% (10 ppm), 40,83% (20 ppm), 47,74% (30 ppm), 54,59% (40 ppm), hingga 62,28% (50 ppm), dengan nilai IC50 sebesar 32,5 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan denaturasi protein dari ekstrak daun limpasu hampir sebanding dengan natrium diklofenak. Perbedaan nilai IC50 yang sangat kecil (32,59 ppm

untuk ekstrak daun limpasu dan 32,5 ppm untuk natrium diklofenak) mengindikasikan bahwa ekstrak daun limpasu memiliki potensi antiinflamasi yang relatif sama dengan obat standar yang digunakan secara klinis(Novika, Ahsanunnisa, and Yani 2021).

Aktivitas tersebut diduga berkaitan erat dengan kandungan metabolit sekunder pada ekstrak daun limpasu, seperti flavonoid, fenolik, dan tanin. Senyawa-senyawa ini diketahui memiliki kemampuan untuk menstabilkan protein dengan cara berikatan melalui interaksi hidrofobik maupun ikatan hidrogen sehingga dapat mencegah terjadinya denaturasi. Selain itu, flavonoid juga dikenal memiliki efek antioksidan yang kuat, yang dapat menekan terbentuknya radikal bebas penyebab kerusakan protein dan inflamasi. Oleh karena itu, hasil penelitian ini mendukung bahwa ekstrak daun limpasu berpotensi sebagai kandidat bahan alam yang dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai agen antiinflamasi dengan efektivitas yang mendekati obat kontrol natrium diklofenak(Fitriana et al. 2024).

Penentuan nilai IC_{50} (Inhibitory Concentration 50%) dilakukan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun Baccaurea lanceolata yang mampu menghambat 50% aktivitas protein (BSA) pada uji denaturasi protein. Nilai ini mencerminkan potensi aktivitas antiinflamasi dari ekstrak, di mana semakin kecil nilai IC_{50} yang diperoleh, maka semakin kuat kemampuan ekstrak dalam menghambat proses denaturasi protein (atau aktivitas biologis yang diuji).

Pada penelitian ini, perhitungan IC_{50} dilakukan dengan menggunakan metode interpolasi linear. Metode ini dipilih karena bentuk hubungan antara konsentrasi dan persen inhibisi pada rentang di sekitar 50% cenderung linier, sehingga dapat

memberikan estimasi yang cukup akurat tanpa memerlukan analisis statistik yang kompleks seperti regresi probit atau logit. Prinsip dasar metode ini adalah memperkirakan nilai konsentrasi yang menghasilkan efek 50% dengan menarik garis lurus di antara dua titik hasil pengujian yang mengapit nilai tersebut(Bailey-shaw et al. 2017).

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

Uji aktivitas antiinflamasi menggunakan metode inhibisi denaturasi protein (BSA) pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun limpasu memiliki kemampuan menghambat denaturasi protein dengan persentase yang bervariasi tergantung pada konsentrasi yang digunakan, Inhibisi Tertinggi pada Konsentrasi Terendah Nilai % inhibisi tertinggi justru ditunjukkan pada konsentrasi terendah, yaitu 10 ppm (86,47%).

B. Saran

Peneliti ini merekomendasikan agar pada penelitian selanjutnya dilakukan uji lanjutan terhadap ekstrak daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*), baik melalui pengujian fitokimia lanjutan maupun uji aktivitas biologis lainnya, sehingga dapat diperoleh data yang lebih komprehensif mengenai manfaat dan potensi terapinya.

DAFTAR PUSTAKA

Aisyah, Siti, Ahmad Septian Gumelar, M. Syeh Maulana, and R.A Hoetary Tirta Amalia. 2023. "Identifikasi Karakteristik Hewan Vertebrata Mamalia Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Berdasarkan Morfologi Dan Anatominya." *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)(e-Journal)* 3(2): 93–102.

Astika, Rahmila Yuni, Fathnur Sani K, and Elisma. 2022. "UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL DAUN KAYU MANIS (Cinnamomum Burmanni) PADA MENCIT PUTIH JANTAN." *Jurnal Ilmiah Manuntung* 8(1): 14–23. doi:10.51352/jim.v8i1.465.

Bailey-shaw, Yvonne A, Lawrence A D Williams, Cheryl E Green, Shawntae Rodney, Ann Marie Smith, Development Division, and Hope Gardens Complex. 2017. "Metode Bsa." 47(27): 145–53.

Fadlilaturrahmah, Fadlilaturrahmah, Jariyah Amilia, Yuana Sukmawaty, and Nashrul Wathan. 2022. "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." *Jurnal Pharmascience* 9(2): 355. doi:10.20527/jps.v9i2.14372.

Firdaus, Savira, Muhammad Zainul Fadli, and Yoni Rina Bintari. 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. https://jim.unisma.ac.id/index.php/jkkfk/article/view/24588.

Fitriana, Mariama, Wahida Hajrin, Windah Anugrah Subaidah, Sucilawaty Ridwan, and Eskarani Tri Pratiwi. 2024. "Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol Ashitaba (Angelica Keiskei) Secara In Vitro." *Jurnal Biologi Tropis* 24(2b): 239–47. doi:10.29303/jbt.v24i2b.8105.

Hadi, F. Siusanto, Florence Pribadi, Arini Dyah Saputri, Ni Luh Shalia Eka Pratiwi, and Ummul Fadika. 2022. "2.+JIPJISK+Supp+VOL+12+NO+4+Oktober++2022+hal+785-794+(Ni+Luh+Shalia+Eka+Pratiwi)." *Jurnal Ilmiah Permas :Jural Ilmiah STIKES Kendal* 12(4): 785–94.

Koesman, Steven, Budhijanto, David Bennet, and Bima Pancasakti. 2023. "Analisis Kuat Geser Perekat Alami Berbahan Soy Protein Isolate Dengan Variasi Natrium Sulfit Dan Asam Oksalat." *Jurnal Teknik Kimia USU* 12(2): 62–69. doi:10.32734/jtk.v12i2.11929.

Nindia, Listarmi, Muhaimin, and Elisma. 2021. "Aktivitas Antiiflamsi Resin Jernang (Daemonorops Draco (Willd .)) Pada Mencit Putih." *Indonesian Journal of Pharma Science* 3(2): 81–90. https://online-journal.unja.ac.id/IJPS/article/download/14701/12656/46370.

Novika, Dheani Sepalia, Riska Ahsanunnisa, and Dwi Fitri Yani. 2021. "Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi L.) Terhadap Penghambatan Denaturasi Protein." *Stannum : Jurnal*

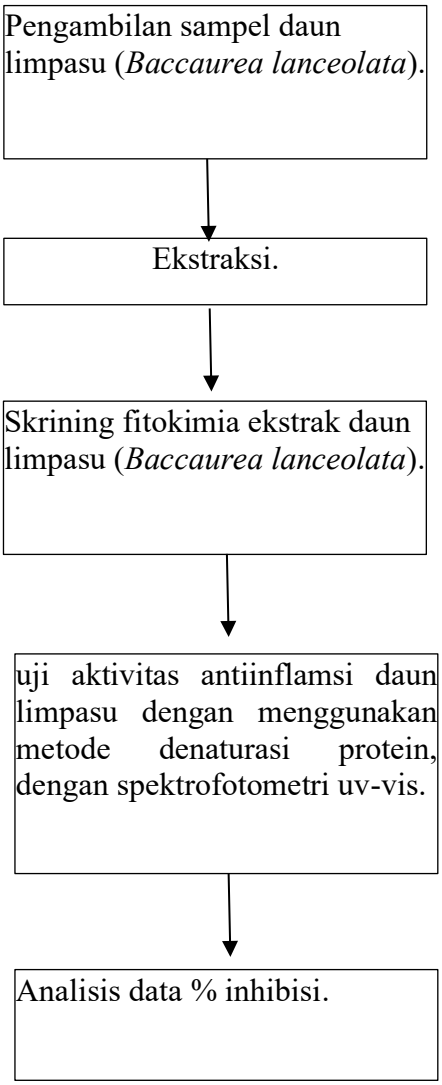
Sains dan Terapan Kimia 3(1): 16–22. doi:10.33019/jstk.v3i1.2117.

Rizka Nirmala, Annisa, Lina Permatasari, Handa Muliasari, and Rizqa Fersiyana Deccati. 2023. "Review: Analisis Kondisi Optimal Metode Penghambatan Denaturasi Protein Bovine Serum Albumin (BSA) Pada Pengujian Aktivitas Antiinflamasi Berbagai Ekstrak Daun Tanaman Review: Analysis of Optimal Conditions of Bovine Serum Albumin (BSA) Protein Denaturati." *Journal of Agritechnology and Food Processing* 3(2): 101–3.

Suhaenah, Asriani, Siska Nuryanti, Zainal Abidin, and Nur Evatiara. 2024. "Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Dan Fraksi Etil Asetat Daun Karet Kebo (*Ficus Elastica*) Dengan Menggunakan Metode Spektrofometri UV-Vis." *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 11(2): 47–54. doi:10.33096/jffi.v11i2.1288.

LAMPIRAN 1

Skema Kerja



LAMPIRAN 2

Perhitungan

1. Perhitungan % rendamen

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{Berat\ Ekstrak}{Bahan\ Baku\ Kering} \text{ x } 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{68,57}{600} \text{ x } 100\%$$

$$= 11,42\%$$

2. Perhitungan % inhibisi daun limpasu

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{Absorbansi\ kontrol - absorbansi\ sampel}{absorbansi\ kontrol} \text{ x } 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1,3718-0,86}{1,3718} \text{ x } 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1,3718-0,81}{1,3718} \text{ x } 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1,3718-0,74}{1,3718} \text{ x } 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1,3718-0,61}{1,3718} \text{ x } 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1,3718-0,51}{1,3718} \text{ x } 100\%$$

3. Perhitungan % Inhibisi Natrium Diklofenak

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{Absorbansi\ kontrol - absorbansi\ sampel}{absorbansi\ kontrol} \text{ x } 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1,3718-0,87}{1,3718} \text{ x } 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1,3718-0,81}{1,3718} \text{ x } 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1,3718-0,71}{1,3718} \text{ x } 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1,3718-0,62}{1,3718} \text{ x } 100\%$$

% Inhibisi = $\frac{1,3718-0,51}{1,3718}$ x $50 - I1$ x (C2 -C1)

100%

4. Perhitungan IC50 Na

Diklofenak

$IC_{50} = C1 + \frac{(50 - I1)}{(I2 - I1)}$

Ket:

- C1,C2 = Konsetrasi yang mengapit 50%
- $I1, I2$ = % inhibisi di C1 dan C2

Contoh perhitungan :

C1 = 30 ppm, $I1$ = 47,74%

C2 = 40 ppm, , $I2$ = 54,59%

$IC_{50} = 30 + (\frac{50 - 47,74}{54,59 - 47,74})$ x (40– 30)

= 30 + $\frac{2,26}{6,26}$ x 10 = 1,33

= 30 + 3,61

= 33,61 ppm

5. Perhitungan IC_{50} Ekstrak Daun Limpasu

$IC_{50} = C1 = (\frac{50 - I1}{I2 - I1})$ x (C2 -C1)

Ket:

- C1,C2 = Konsetrasi yang mengapit 50%
- $I1, I2$ = % inhibisi di C1 dan C2
- Contoh perhitungan :

C1 = 30 ppm, $I1$ = 45,69%

C2 = 40 ppm, , $I2$ = 55,06%

$$IC_{50} = 30 + \left(\frac{50 - 45,69}{55,06 - 45,69}\right) \times (40 - 30)$$

$$= 30 + \frac{4,31}{9,37} \times 10 = 1,33$$

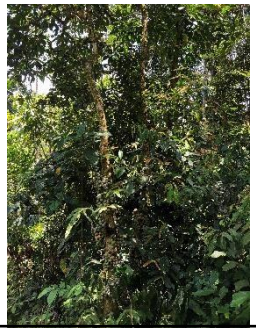
$$= 30 + 4,59$$

$$= 34,59 \text{ ppm}$$

LAMPIRAN 3

DOKUMENTASI

1. Pengambilan sampel



Gambar 1. Pengambilan sampel pada jam 8 pagi sampai selesai.



Gambar 2. Dilakukan sortasi basah



Gambar 3. Dilakukan perajangan



Gambar 4. Dilakukan pengeringan dan sortasi kering

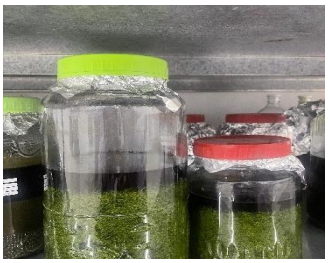
2. Ekstraksi



Gambar 1. Ditimbang serbuk simplisia sebanyak 600 mg



Gambar 2. Dimasukkan serbuk simplisia kedalam toples lalu di tambahkan etanol 96% sebanyak 3,5 liter

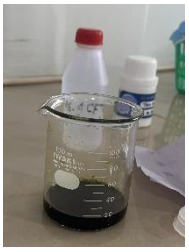


Gambar 3. Dilakukan perendaman selama 3x24 jam sesekali diaduk

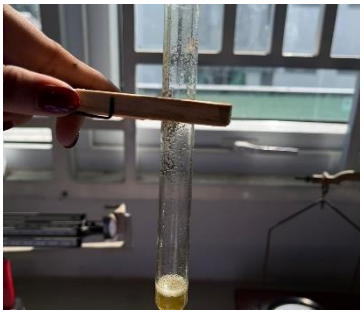


Gambar 4. Maserat diuapkan mengggunakan rotari evaporator

3. Skrining



Gambar 1. Sampel uji fitokimia



Gambar 2. Ekstrak daun limpasu posifif flafonoid



Gambar 3. Ekstrak daun limpasu positif alkaloid



Gambar 4. Ekstrak daun limpasu positif tanin



Gambar 5. Ekstrak daun limpasu positif saponin

4. Pembuatan larutan TBS *(Trus Buffer Saline)*



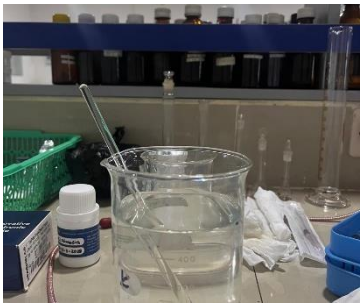
Gambar 1. Dilarutkan NaCL kedalam aquades



Gambar 2. Ditambah tris buffer serta aquades 200 ml



Gambar 3. Ditambah asam asetat glasial



Gambar 4. Ditambahkan 100 ml aquades

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



Gambar 1. Dilarutkan BSA *(Bovine serum albumin)* dengan lautan tris buffer saline

6. Pembuatan larutan kontrol negatif



Gambar 1. Sebanyak 50 µ etanol di masukkan ke labu ukur 5 ml lalu ditambah larutan BSA sampai tanda batas

7. Pembuatan larutan uji & kontrol positif



Gambar 1. Ekstrak daun limpasu dilarutkan dengan etanol



Gambar 2. Diencerkan masing-masing 10,20,30,40,50,75,100 ppm dicukupkan dengan larutan BSA sampai tanda batas batas

8. Pengujian aktivitas antinflamasi laruta



Gambar 1. Dilarutkan NaCL kedalam aquades



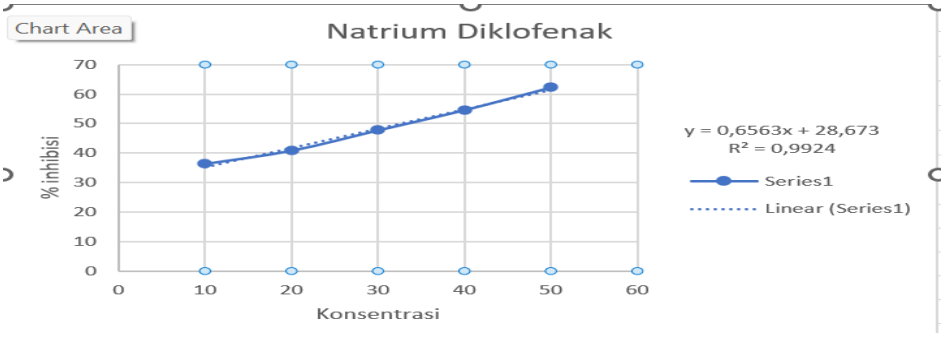
Gambar 2. Dicukupkan dengan larutan BSA sampai tanda batas

LAMPIRAN 3

Kurva denaturasi protein dan data absorbansi spektrofotometri Uv-vis



Grafik penghambatan denaturasi protein oleh ekstrak daun limpasu



Grafik penghambatan denaturasi protein oleh natrium diklofenak

Result Data

Name	AU(660,00nm)
KN-1	1,3661
KN-2	1,3708
KN-3	1,3786
Ekstrak 10 ppm-1	0,8639
Ekstrak 10 ppm-2	0,8641
Ekstrak 10 ppm-3	0,8642
Ekstrak 20 ppm-1	0,8174
Ekstrak 20 ppm-2	0,8173
Ekstrak 20 ppm-3	0,8172
Ekstrak 30 ppm-1	0,7459
Ekstrak 30 ppm-2	0,7456
Ekstrak 30 ppm-3	0,6452
Ekstrak 40 ppm-1	0,6172
Ekstrak 40 ppm-2	0,6162
Ekstrak 40 ppm-3	0,5977
Ekstrak 50 ppm-1	0,5154
Ekstrak 50 ppm-2	0,5014
Ekstrak 50 ppm-3	0,4408
K+ 10 ppm-1	0,8316
K+ 10 ppm-2	0,8242
K+ 10 ppm-3	0,8237
K+ 20 ppm-1	0,8215
K+ 20 ppm-2	0,8118
K+ 20 ppm-3	0,8116
K+ 30 ppm-1	0,7169
K+ 30 ppm-2	0,7168
K+ 30 ppm-3	0,7169
K+ 40 ppm-1	0,6325
K+ 40 ppm-2	0,6201
K+ 40 ppm-3	0,6161
K+ 50 ppm-1	0,5195
K+ 50 ppm-2	0,5192
K+ 50 ppm-3	0,4434

Data absorbansi spektrofotometri Uv-vis

LAMPIRAN 4

PERSURATAN

PEMERINTAH PROVINSI SULAWESI SELATAN
DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU PINTU
Jl.Bougenville No.5 Telp. (0411) 441077 Fax. (0411) 448936
Website : http://simap-new.sulselprov.go.id Email : ptsp@sulselprov.go.id
Makassar 90231

Nomor : **9488/S.01/PTSP/2025**
Lampiran : -
Perihal : **Izin penelitian**

Kepada Yth.
Rektor Univ. Megarezky Makassar

di-
Tempat

Berdasarkan surat Kepala LPPM Univ. Megarezky Makassar Nomor : 1459/07.091056/V/2025 tanggal 03 Mei 2025 perihal tersebut diatas, mahasiswa/peneliti dibawah ini:

N a m a : **GRASELA**
Nomor Pokok : D1B121186
Program Studi : Farmasi
Pekerjaan/Lembaga : Mahasiswa (S1)
Alamat : Jl. Antang Raya No. 43, Makassar

dpmptsp
PROVINSI SULAWESI SELATAN

Bermaksud untuk melakukan penelitian di daerah/kantor saudara dalam rangka menyusun SKRIPSI, dengan judul :

" UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI SECARA INVITRO DENGAN METODE DENATURASI PROTEIN PADA EKSTRAK DAUN LIMPASU (Baccaurea lanceolata) "

Yang akan dilaksanakan dari : Tgl. ***09 Mei s/d 15 Juli 2025***

Sehubungan dengan hal tersebut diatas, pada prinsipnya kami ***menyetujui*** kegiatan dimaksud dengan ketentuan yang tertera di belakang surat izin penelitian.

Demikian Surat Keterangan ini diberikan agar dipergunakan sebagaimana mestinya.

Diterbitkan di Makassar
Pada Tanggal 09 Mei 2025

KEPALA DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU PINTU PROVINSI SULAWESI SELATAN

ASRUL SANI, S.H., M.Si.
Pangkat : PEMBINA TINGKAT I
Nip : 19750321 200312 1 008

Tembusan Yth
1. Kepala LPPM Univ. Megarezky Makassar di Makassar;
2. *Pertinggal.*

	UNIVERSITAS MEGAREZKY FAKULTAS FARMASI **PROGRAM STUDI S-1 FARMASI** Jl. Antang Raya No. 43 Telp. (0411) 492401 – 496401 Web : http://universitasmegarezky.ac.id Email : s1farmasimrm@gmail.com	Kode/No : UNIMERZ.11.32.1/FM Tanggal : 15 April 2019 Revisi : 00 Halaman : 1 dari 1

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Grasela

NIM : D1B121186

Program Studi : S1 Farmasi

Fakultas : Farmasi

Universitas : Universitas Megarezky

Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antiinflasi Secara Invitro Dengan Metode Denaturasi Protein Pada Ekstrak Daun Limpasu (*Baccaura Lanceolata*)

Dengan ini menyatakan bahwa Skripsi dengan judul tersebut diatas sedang dalam proses pengecekan di LPPM Universitas Megarezy.

Apabila hasil pengecekkan plagiasi skripsi saya belum memenuhi syarat (>30%), maka saya akan memperbaiki sampai memenuhi syarat yang ditetapkan sebelum mendaftar wisuda.

Setelah proses pengecekan di LPPM selesai (telah memenuhi syarat), saya akan segera menyerahkan hasil pengecekkan plagiasi turnitin kepada Program Studi S1 Farmasi untuk keperluan administrasi lebih lanjut.

Surat pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya sebagai syarat untuk mengikuti Ujian Hasil.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan tanggung jawab

Makassar, 13.. Agustus 2025

Mengetahui,
Ketua Prodi S1 Farmasi

Dr. apt. Nurhikma Awaluddin, S.Farm., M.Si
NIDN. 09 220291 02

Mahasiswa,

GRASELA
NIM. D1B121186

Dipindai dengan CamScanner

Biografi



Grasela, nama harian sela. Penulis lahir di pada tanggal 08 Agustus 2003 di Tarinding, Provinsi Sulawei Barat. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara, anak dari pasangan Saddu dan Hibur. Penulis memulai pendidikan sekolah dasar di SDN 014 Tarinding pada tahun 2009-2015 kemudian melanjutkan sekolah menengah pertama di SMPN 1 Mamuju pada tahun 2015-2018 lalu melanjutkan sekolah menengah atas di SMK Negeri 1 Mamuju pada tahun 2018-2021. Setelah lulus melanjutkan studi di Universitas MegaRezky Makassar pada tahun 2021, Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi. Akhir kata penulis mengucapkan rasa syukur telah menyelesaikan skripsi dengan judul "Uji Aktivitas Antiinflamasi Secara Invitro Dengan Metode Denaturasi Protein Pada Ekstrak Daun Limpasu (*Baccaurea lanceolata*)".