SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI NANOPARTIKEL EKSTRAK ETANOL DAUN LIMPASU (*Baccaurea lanceolata*) SECARA IN VITRO DENGAN METODE DENATURASI PROTEIN

JIHAN AULYA

NIM : D1B324050

PROGRAM STUDI S1 FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2025

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI NANOPARTIKEL EKSTRAK ETANOL DAUN LIMPASU (*Baccaurea lanceolata*) SECARA IN VITRO DENGAN METODE DENATURASI PROTEIN

Disusun serta dijukan guna memenuhi salah satus yarat memperoleh gelar sarjana farmasi

JIHAN AULYA

NIM: D1B324050

PROGRAM STUDI S1 FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2025

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi dengan Judul

UJI AKTIVITAS ANTIIFLAMASI NANOPARTIKEL ESTRAK ETANOL DAUN LIMPASU (*Baccaurea lanceolata*) SECARA INVITRO DENGAN METODE DENATURASI PROTEIN

Telah disetujui untuk dipertahankan dihadapan
Tim Penguji skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Megarezky
Pada hari Sabtu tanggal 10 Januari 2026

Pembimbing 1	Pembimbing II
(apt. Tenri Ayu Adri, S.Farm., M.Biomed)	(Nurmala Sari, S.Si., M.Sc)
NIDN. 09 150897 02	NIDN. 09 241087 02

Ketua Program Studi S1 Farmasi

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

HALAMAN PENGESAHAN

Pada hari ini Sabtu tanggal 10 bulan januari tahun 2026 bertempat di ruangan tutorial 2, lantai 3 gedung D, Fakultas Farmasi Universitas Megarezky, telah dilaksanakan Ujian Skripsi sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Program Sarjana Farmasi terhadap mahasiswa atas nama:

Nama : Jihan Aulya
NIM : D1B324050
Program Studi : Farmasi
Jenjang : Strata I
Judul Skripsi : **UJI AKTIVITAS ANTIIFLAMASI NANOPARTIKEL ESTRAK ETANOL DAUN LIMPASU (*Baccaurea lanceolata*) SECARA INVITRO DENGAN METODE DENATURASI PROTEIN**

Yang telah diuji oleh **Tim Penguji SKRIPSI**, sebagai berikut:

Tim Penguji	Tanda Tangan
1. apt. Tenri Ayu Adri, S.Farm., M.Biomed	(.....)
2. Nurmala Sari, S.Si., M.Sc	(.....)
3. apt. Muhammad Asri SR, S.Farm., M.Farm	(.....)

Mengetahui,

Dekan,	Ketua Program Studi
(Dr. apt. Besse Yuliana, S.Si., M.Si.)	(Dr. apt. Surhikma A, S.Farm., M.Si.)
NIDN: 09 231179 01	NIDN: 09 220291 02

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warrahmatullahi Wabarakatuh

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 nanopartikel ekstrak etanol daun limpasu (*Baccaurea lancolata*) secara in vitro dengan metode denaturasi protein**".

Penyusunan karya tulis ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Sarjana Farmasi pada 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 **Mahyuddin G** dan Ibu **Hetty Guswati** yang senantiasa mendoakan, mendampingi, serta memberikan semangat, kasih sayang, dan dukungan moral 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 Alm. 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 Dr. apt. Nurhikma Awaluddin, S.Farm., M.Si. sebagai Ketua Program Studi Sarjana Farmasi dan sebagai Pembimbing Akademik (PA)**, atas bimbingan akademik yang berkelanjutan dan inspiratif.
7. **Dosen Pembimbing I Ibu apt. Tenri Ayu Adri, S.Farm., M.Biomed dan Ibu Nurmala Sari, S.Si., M.Sc sebagai Dosen Pembimbing II** yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan karya tulis ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
8. **Dosen Penguji I Bapak apt. Muhammad Asri SR, S.Farm., M.Farm** yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan karya tulis ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.

9. **Seluruh Dosen dan Staf Akademik Universitas Megarezky**, atas ilmu, perhatian, dan pelayanan yang diberikan selama proses studi.
10. **Seluruh Staf Laboratorium Universitas Megarezky**, atas izin, dukungan, dan kerja samanya selama pelaksanaan penelitian.
11. **Teman-teman seperjuangan dan semua pihak** yang turut membantu secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan karya ilmiah ini.
12. **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, 9 Januari 2026

Jihan Aulya

ABSTRAK

Jihan Aulya (D1B324050). Uji Aktivitas Antiinflamasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Limpasu (*Baccaurea lanceolata*) Secara In Vitro dengan Metode Denaturasi Protein (Dibimbing oleh Tenri ayu Adri dan Nurmala Sari).

Inflamasi merupakan tanda respons sistem pembuluh darah terhadap infeksi dan kerusakan jaringan, mengangkut sel dan molekul dari sistem kekebalan tubuh dari aliran darah ke tempat di mana mereka dibutuhkan untuk menghilangkan faktor-faktor yang mengganggu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi nanopartikel ekstrak daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*) dengan metode denaturasi protein. 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 nanopartikel ekstrak daun limpasu memiliki aktivitas penghambatan denaturasi protein yang bersifat *dose-dependent*. Persentase inhibisi pada konsentrasi 10 ppm sebesar 38,18% dan meningkat hingga 68,15% pada konsentrasi 70 ppm. Sebagai pembanding, kontrol positif natrium diklofenak menunjukkan inhibisi 41,52% pada 10 ppm dan 68.69% pada 70 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa nanopartikel ekstrak daun limpasu memiliki potensi antiinflamasi yang kuat dan dapat menjadi kandidat sumber bahan obat alami.
Pada uji inhibisi BSA menunjukkan bahwa nanopartikel ekstrak daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*) memiliki nilai IC50 sebesar 33,52 ppm, hampir setara dengan natrium diklofenak sebagai kontrol positif yang bernilai 34,5 ppm. Hal ini mengindikasikan bahwa nanopartikel ekstrak daun limpasu berpotensi sebagai agen antiinflamasi alami dengan efektivitas yang mendekati obat standar.

Kata Kunci: Ekstrak daun limpasu, Inflamasi, Denaturasi protein

ABSTRACT

Jihan Aulya (D1B324050). *In Vitro Anti-Inflammatory Activity Test of Nanoparticles of Ethanol Extract of Limpasu Leaves (Baccaurea lanceolata) Using the Protein Denaturation Method (Supervised by Leni Ayu Adri and Nurmala Sari).*

Inflammation is a vascular system response to infection and tissue damage, involving the transport of immune cells and molecules from the bloodstream to affected sites to eliminate disruptive factors. This study aimed to determine the anti-inflammatory activity of nanoparticles derived from the ethanol extract of limpasu leaves (Baccaurea lanceolata) using the protein denaturation method. The mechanism of the assay was based on the ability of active compounds in the extract to prevent heat-induced protein structural damage, which was analyzed using a UV–Vi's spectrophotometer at a wavelength of 660 nm.

The results showed that nanoparticles of limpasu leaf extract exhibited inhibitory activity against protein denaturation in a dose-dependent manner. The percentage of inhibition at a concentration of 10 ppm was 38.18%, increasing to 68.15% at 70 ppm. As a comparator, the positive control sodium diclofenac showed inhibition values of 41.52% at 10 ppm and 68.69% at 70 ppm. These findings indicate that nanoparticles of limpasu leaf extract possess strong anti-inflammatory potential and may serve as a candidate source of natural medicinal compounds.

The BSA inhibition assay further demonstrated that nanoparticles of limpasu leaf extract (Baccaurea lanceolata) had an IC_{50} value of 33.52 ppm, which is comparable to that of the positive control, sodium diclofenac, with an IC_{50} value of 34.5 ppm. This suggests that nanoparticles of limpasu leaf extract have potential as a natural anti-inflammatory agent with effectiveness approaching that of standard drugs.

Keywords: *Limpasu leaf extract, Inflammation, Protein denaturation.*



DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL i

HALAMAN PERSETUJUAN iii

HALAMAN PENGESAHAN iv

KATA PENGANTAR v

ABSTRAK viii

DAFTAR ISI ix

DAFTAR TABEL xi

DAFTAR GAMBAR xii

DAFTAR LAMPIRAN xiii

BAB I PENDAHULUAN 1

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

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 5

A. Uraian Tanaman Limpasu (*Baccaurea lanceolata*) 5
B. Ekstraksi 8
C. Nanopartikel 10
D. Infalamasi 12
E. Natrium Diklofenak 16
F. Metode In-Vitro 17
G. Spektrofotometri UV-Vis 19
H. Kerangka Teori 21
I. Kerangka Konsep 22

BAB III METODE PENELITIAN 23

A. Jenis penelitian 23
B. Lokasi dan Waktu Penelitian 23
C. Alat dan Bahan Penelitian 23
D. Populasi dan Sampel 24
E. Prosedur Kerja 24
F. Analisis Data 28
G. Perhitunga IC_{50} 29

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 31

A. Hasil Penelitian 31
B. Pembahasan 33

BAB V PENUTUP 44

A. Kesimpulan 44
B. Saran 44

DAFTAR PUSTAKA 45

LAMPIRAN 47

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 4.1 Persen Rendamen Daun Limpasu 31
Table 4.2. Hasil Skrining Ekstrak Daun Limpasu 31
Tabel 4.3 Hasil Inhibisi BSA Oleh Nanopartikel Ekstrak Daun Limpasu 31
Tabel 4.4. Grafik BSA Oleh Nanopartikel Ekstrak Daun Limpasu 32
Table 4.5. Hasil Inhibisi BSA Oleh Natrium Diklofenak 32
Table 4.6 Grafik BSA Oleh Natrium Diklofenak 33

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Daun Limpasu 5
Gambar 2.2 Metode Maserasi 8
Gambar 2.3 Metode Perkolasi 9
Gambar 2.4 Metode Sokletasi 9
Gambar 2.5 Mekanisme Infalamasi 13
Gambar 2.6 Manifesting Lokal Peradangan Akut 14
Gambar 2.7 Emigrasi Leukosit Pada Inflamasi 15
Gambar 2.8 Kerangka Teori 21
Gambar 2.9 Kerangka Konsep 22

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1 Skema Kerja 47
Lampiran 2 Perhitungan 48
Lampiran 3 Dokumentasi 52
Lampiran 4 Data Adsorbansi 58

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Inflamasi adalah reaksi pertahanan tubuh terhadap cedera atau kerusakan jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, bahan kimia berbahaya, atau zat mikrobiologis. Inflamasi ditandai dengan kemerahan, panas berlebih, pembengkakan, nyeri, dan perubahan fungsi jaringan tubuh. (Suryandari, Queljoe, and Datu 2021).

Inflamasi juga merupakan tanda respon jaringan pembuluh darah terhadap infeksi dan kerusakan jaringan dengan mekanisme membawa sel serta molekul pertahanan tubuh dari peredaran darah ke tempat yang diperlukan untuk menghilangkan faktor-faktor yang mengganggu. Peradangan sering dijumpai dalam praktik kedokteran dan kehidupan sehari-hari, peradangan muncul sebagai reaksi yang berbahaya, namun nyatanya peradangan merupakan reaksi protektif yang penting untuk kelangsungan hidup. Peran peradangan adalah menghilangkan akar penyebab kerusakan sel (Sari et al., 2025)

Antiinflamasi juga dikenal sebagai obat yang menghambat proses peradangan. Obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) adalah kelompok obat yang sering digunakan untuk mengobati peradangan. Obat-obatan ini menghambat enzim cyclooxygenase-1 (COX-1), yang dapat menimbulkan efek samping pada sistem gastrointestinal dan kardiovaskular, serta enzim cyclooxygenase-2 (COX-2). Karena efek samping ini, terdapat banyak penelitian yang meneliti bahan alami untuk mencari alternatif bagi obat antiinflamasi modern. (Suryandari et al.

2021)

Uji antiinflamasi dapat dilakukan dengan dua metod, yakni in vitro dan in vivo. Uji in vitro dilakukan dengan menggunakan, di antaranya, metode denaturasi protein, utama dengan indikator albumin serum sapi (BSA), yang memiliki keunggulan sangat efektif karena sifat inflamasii protein yang menyebabkan kerusakan. sel dalam tubuh. Suhu merupakan faktor yang menyebabkan kerusakan protein. Pemanasan mempengaruhi ikatan yang terbentuk selama interaksi hidrofobik dan ikatan hidrogen, yang menyebabkan peningkatan energi kinetik. Peningkatan ini dapat merusak struktur tersier, kuaterner, dan sekunder dengan merusak ikatan hidrogen protein. (Sari et al., 2025).

Obat herbal memiliki peran penting penting dalam pelayanan kesehatan. Saat memproduksi obat tradisional, standar dan peraturan keamanan harus diikuti untuk memastikan bahwa ekstrak tumbuhan dalam kondisi baik. Untuk obat herbal, analisis kimia berdasarkan data farmakologis, analisis fisik, dan analisis mikrobiologis dapat digunakan untuk memverifikasi keamanan ekstrak obat alami atau untuk menstandarkan obat herbal. (Fatimawali, Kepel, and Bodhi 2020).

Penduduk Indonesia cenderung mengandalkan obat-obatan alami yang terbuat dari tumbuhan atau ekstrak tumbuhan sebagai pengobatan alternatif. Penggunaan obat herbal merupakan metode pengobatan yang efektif Penggunaan obat herbal merupakan metode pengobatan yang efektif dan relatif aman yang digunakan untuk mencegah dan mengobati berbagai penyakit serta dapat memperkuat daya tahan tubuh terhadap penyakit (Azizah dkk., 2022).

Tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat salah satunya adalah daun limpasu. Limpasu merupakan tumbuhan daerah Kalimantan selatan, tumbuhan tersebut sering ditemukan di hutan mempunyai fungsi penting bagi lingkungan serta ekosistem alam. Buah limpasu dengan rasa asam-manis umumnya dimanfaatkan masyarakat sebagai campuran dalam makanan dan minuman tradisional atau dapat dimakan langsung. Tanaman limpasu secara epidermis telah dimanfaatkan oleh masyarakat khususnya suku Dayak meratus sebagai bahan tradisional untuk perawatan kulit. Tanaman limpasu memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai tanaman obat tradisional karena beberapa bagian tanamannya diketahui memiliki sifat farmakologi yang menarik (Soemarie, 2024).

Berdasarkan latar belakang diatas, penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antiinflamasi nanopartikel ekstrak daun Limpasu (*Baccaurea lanceolata*) secara invitro menggunakan metode denaturasi protein secara optimal. Oleh karena itu, penulis telah memutuskan penelitian dengan judul "Uji Aktivitas Antiinflamasi Nanopartikel Ekstrak Daun Limpasu (*Baccaurea lanceolata*) Secara Invitro Dengan Metode Denaturasi Protein*"*.

B. Rumusan Masalah

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

C. Tujuan Penelitian

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

D. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini yaitu:

1. Bagi Penelitian

   Untuk menambah informasi dan mengembangkan ilmu pengetahuan tentang aktivitas nanopartikel ekstrak daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*) dengan metode denaturasi protein.

2. Bagi Akademik

   Sebagai sumbangsih kepustakaan ilmiah bagi almamater program studi S1 Farmasi Universitas Megarezky Makassar.

3. Bagi Masyarakat

   Manfaat dari penelitian ini diharapkan memberi pengetahuan baru lagi masyarakat terkait pemanfaatan tanaman limpasu.

BAB II

TINJAUN PUSTAKA

A. Uraian Tanaman

1. Klasifikasi

   Adapun klasifikasi tumbuhan limpasu sebagai berikut:

   Kingdom : Plantae

   Divisi : Tracheophyta

   Kelas : Magnoliopsida

   Ordo : Malpighiales

   Famili : Phyllanthaceae

   Genus : Baccaurea

   Spesies : *Baccaurea lanceolata* (Soemarie, 2024)



Gambar 2.1 Daun Limpasu (*Baccaurea lanceolata*) (Dokumentasi pribadi)

2. Nama Daerah

Limpasu merupakan salah satu buah khas Kalimantan dan Sumatera yang memiliki beragam nama antara lain, ampusu, lampaong, lampawong, lepasu, lipase, nipassu, kalampesu, empaong, lempahon, dan asam pauh. Buah ini umumnya tumbuh dipinggir dan lereng sungai dengan pohon yang menjulang tinggi. Rasa buah limpasu terkenal masam namun dapat tumbuh lebat tanpa mengenal musim (Soemarie, 2024).

3. Morfologi

Adapun ciri ciri morfologi tumbuhan limpasu sebagai berikut:

a. 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
b. Daun: 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 kecoklatan saat kering. Dibwah permukaan daun, terdapat sekitar 6 hingga 13 urat per sisi.
c. Bunga: limpasu memiliki Bungan yang terbagi menjadi bunga staminate (jantan) dan bunga pisilate (betina). Infloresens bunga jantan muncul dari batang dan dapat berbentuk kumpulan yang banyak bersama-sama, dengan Panjang hingga sekitar 33 hingga 50 cm. bunga pistilate berdiameter sekitar 3,5 hingga 10 mm dan berwarna kuning, orange, ungu, krem kemerahan, atau putih.

d. Buah: buah limpasu berbentuk bola hingga ellipsoid. Buah ini berukuran 38 mm dalam diameter dan hingga 60 mm saat segar. Setelah kering, ukuran panjang buahnya menjadi sekitar 24 hingga 54 mm, lebar buahnya 16,5 hingga 41 mm, dan tinggi buahnya 16,5 hingga 41 mm. buahnya dapat berwarna hijau, kuning, keabu-abuan, atau coklat. Bagian luar dan dalam buahnya halus (glabrous).
e. Biji dan ariloid: biji buah limpasu memiliki Panjang sekitar 112,2 hingga 26 mm dan lebar 8 hingga 15 mm serta ketebalan sekira 4,8 hingga 9 mm. ariloid pada biji memiliki warna putih hingga abu-abu dan bersifat transfaran (Soemarie, 2024).

4. Kandungan tanaman limpasu

Potensi farmakologis suatu tanaman didasarkan pada metabolit sekunder yang dikandungnya. Ekstrak tanaman limpasu mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Metabolit sekunder seperti flavonoid dapat digunakan sebagai antioksidan dan memiliki efek antibakteri. Buah tanaman Limpasu memiliki kadar fenol dan flavonoid yang lebih tinggi daripada kulit dan biji buahnya. (Rahman et al., 2023).

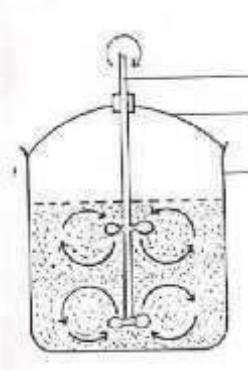
5. Manfaat

Suku Banjar yang tinggal di hutan-hutan Kalimantan Selatan, masih menggunakan tanaman tradisional seperti buah limpasu untuk perawatan kulit. Buah ini biasanya digunakan oleh suku Banjar dalam berkebun dengan mengoleskan buah limpasi ke kulit mereka untuk melindunginya dari sinar matahari (Nastiti & Hadi, 2020).

B. Ektraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan bahan aktif yang larut dari bahan baku menggunakan pelarut cair spesifik (Triyanti dkk., 2025). Ada dua jenis proses ekstraksi, tergantung pada suhu pemanasan: ekstraksi dingin dan ekstraksi panas. Metode ekstraksi dingin adalah metode di mana tidak terjadi pemanasan selama proses. Jenis-jenis ekstraksi dingin meliputi:

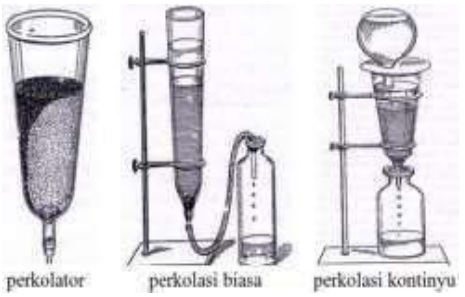
1. Metode maserasi



Gambar 2.2 Metode maserasi

Metode maserasi dilakukan dengan menempatkan sampel dan pelarut dalam wadah yang tertutup rapat pada suhu ruangan. Pelarut dipisahkan dari sampel melalui filtrasi. Kelemahan metode ini adalah membutuhkan banyak pelarut dan waktu. Keuntungannya adalah penghancuran senyawa termolabil dapat dihindari. (Yuliarni et al., 2022).

2. Metode perkolasi

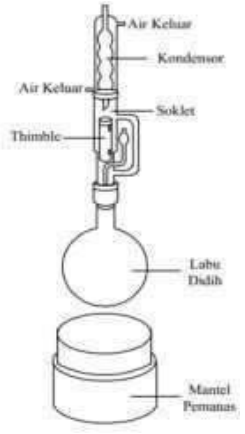


Gambar 2.3 Metode perkolasi

Metode perkolasi, dilakukan dengan perlahan-lahan membasahi bubuk sampel dalam perkolator. Keuntungan metode ini adalah sampel terus-menerus dibilas dengan pelarut segar. Kelemahannya adalah kebutuhan pelarut dan waktu yang tinggi, serta fakta bahwa pelarut kesulitan mencapai sampel pada sampel yang tidak homogen. (Yuliarni et al., 2022).

Metode ektraksi cara panas merupakan metode yang melibatkan pemanasan selama selama proses berlangsungnya, Adapun jenis ekstraksi cara panas meliputi:

1. Metode sokletasi



Gambar 2.4 Metode sokletasi

Ekstraksi menggunakan metode sokletasi dengan alat khusus.

Ekstraksi dilakukan secara terus-menerus dan konstan, dan terdapat pendinginan ulang, namun suhu yang digunakan dalam proses ini tidak lebih tinggi dari suhu dalam proses refluks. (Yuliarni et al., 2022).

2. Metode refluks

   Metode refluks adalah ekstraksi pada titik didih pelarut dengan waktu dan jumlah pelarut yang terbatas, serta menggunakan kondensor refluks.

3. Metode Infusa

   Metode infusa adalah ekstraksi yang dilakukan menggunakan wadah infus yang ditempatkan dalam bak air selama 15-20 menit. Air digunakan sebagai pelarut (Yuliarni dkk., 2022).

4. Metode Dekokta

   Metode dekokta adalah ekstraksi yang mirip dengan metode infusa, tetapi memakan waktu lebih lama daripada infusa, yaitu sekitar 30 menit, dan di mana pelarut air dipanaskan hingga titik didih 90 °C hingga 100 °C

5. Metode digesti

   Metode digesti adalah ekstraksi yang dilakukan pada suhu sekitar 40-50 °C di atas suhu ruangan, dengan pengadukan terus-menerus (Yuliarni et al., 2022).

C. Nanopartikel

Nanopartikel adalah partikel kecil dengan ukuran berkisar antara 1 nm hingga 100 nm. Nanopartikel digunakan untuk meningkatkan kelarutan bahan aktif yang sulit larut, meningkatkan bioavailabilitas yang rendah, memodifikasi sistem pengiriman obat, meningkatkan stabilitas bahan aktif, dan meningkatkan

penyerapan. Dalam produk nanoteknologi, partikel didefinisikan sebagai objek kecil yang berfungsi sebagai unit dalam hal sifat dan transportasinya. Ukuran partikel dapat diklasifikasikan berdasarkan diameternya. Partikel ultrafine serupa dengan nanopartikel dan berukuran antara 1 nanometer hingga 100 nanometer, partikel halus berukuran antara 100 nanometer hingga 2.500 nanometer, dan partikel kasar berukuran antara 2.500 nanometer hingga 10.000 nanometer. Pada rentang ukuran terkecil, partikel logam yang berukuran kurang dari 1 nanometer biasanya disebut sebagai kelompok atom.

Sifat-sifat nanopartikel sangat bergantung berdasarkan ukurannya dikarenakan dengan ukuran yang lebih kecil dapat mendorong terjadinya perubahan fisik atau kimia yang sangat berbeda. Nanopartikel mempunyai sifat koloid dan efek optic ultrafast atau sifat listrik yang dapat mengikuti pada gerakan acak, nanopartikel ini biasanya tidak mengendap, seperti partikel koloid yang biasanya diketahui mempunyai ukuran 1 nanometer hingga 1000 nanometer.

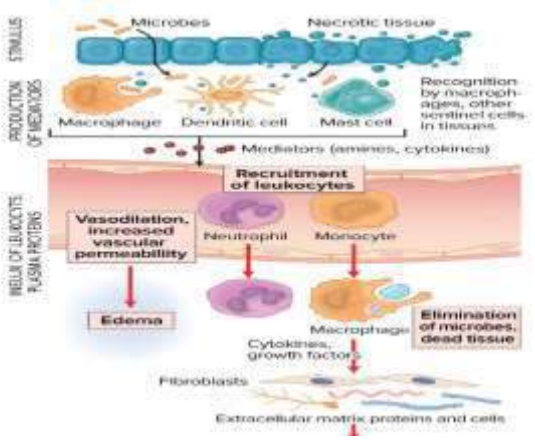
Salah satu metode yang berguna untuk meningkatkan karakter penanganan nanopartikel adalah dengan menerapkan struktur komposit seperti modifikasi permukaan menggunakan nanopartikel. Kontrol struktur komposit seperti modifikasi permukaan akan mengurangi sifat kohesif nanopartikel, dan fungsinya nanopartikel akan muncul dengan lancar. Selain itu struktur komposit yang dibentuk oleh beberapa jenis nano-partikel akan dapat menggabungkan beberapa jenis fungsi, dan diharapkan fungsi baru akan muncul dengan efek mengga-bungkan beberapa jenis fungsi nanopartikel. Struktur komposit secara kasar dapat diklasifikasikan sebagai berikut: (1) struktur komposit yang menggunakan

nanopartikel, (2) struktur kom-posit yang dibentuk oleh aglomerasi nanopartikel, dan (3) komposit bodi yang dibuat dengan nanopartikel.

Keuntungan mengembangkan nanopartikel sebagai sistem pengiriman obat adalah bahwa ukuran partikel, sifat permukaan, dan pelepasan bahan aktif dapat diatur di lokasi spesifik dalam tubuh sebagai situs target pengobatan. Keuntungan menggunakan nanopartikel sebagai sistem pengiriman obat atau Drug Delivery System (DDS) meliputi, di antaranya, kemudahan dalam memanipulasi ukuran partikel dan sifat permukaan nanopartikel, nanopartikel mengatur dan memperpanjang pelepasan obat selama transportasi ke lokasi target, obat dapat dimasukkan ke dalam sistem nanopartikel tanpa reaksi kimia, dan sistem nanopartikel dapat digunakan untuk target pengobatan yang berbeda karena nanopartikel masuk ke aliran darah dan diangkut oleh darah ke target pengobatan. (Yusan, 2024).

D. Inflamasi

Inflamasi adalah reaksi perlindungan lokal yang dipicu oleh terjadinya kerusakan jaringan. Respons inflamasi ditandai dengan terjadinya calor (panas), dolor (nyeri), rubor (kemerahan), tumor (pembengkakan), dan kehilangan fungsi (function laesa). Peradangan adalah reaksi jaringan yang vaskularisasi terhadap infeksi dan kerusakan jaringan guna membersihkan tubuh dari penyebab cedera asli dan konsekuensi dari cedera tersebut. Peradangan dipicu oleh berbagai mediator kimia yang diproduksi oleh sel inang sebagai respons terhadap stimulus.



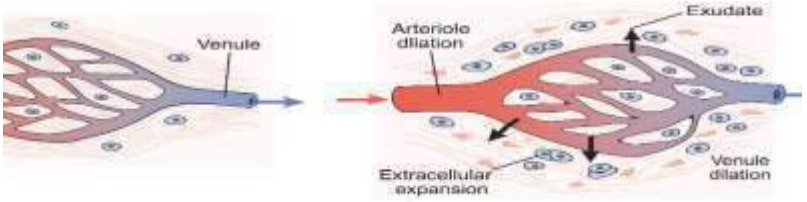
Gambar 2.5 Mekanisme Inflamasi

Gambar 2.5 menggambarkan patofisiologi perkembangan respons inflamasi. Patofisiologi inflamasi dimulai ketika mikroba menyerang jaringan tubuh atau ketika terjadi kerusakan jaringan yang menyebabkan infeksi atau kerusakan pada jaringan. Hal ini kemudian dikenali oleh sel-sel residente seperti makrofag, sel dendritik, sel mast, dan sel-sel lain dalam jaringan, yang kemudian melepaskan mediator inflamasi yang memicu respons vaskular dan seluler. Mediator inflamasi juga terbentuk dari protein plasma yang menanggapi mikroba atau jaringan yang rusak. Protein plasma ini disintesis di hati dan konsentrasinya dapat meningkat sebagai bagian dari respons terhadap stimulus inflamasi. Protein plasma ini termasuk protein C-reaktif (CRP), fibrinogen, dan serum amyloid A (SAA). Mediator inflamasi memicu vasodilatasi, peningkatan permeabilitas vaskular, dan rekrutmen leukosit, yang beredar ke lokasi stimulus inflamasi. Mediator inflamasi juga mengaktifkan leukosit untuk menghancurkan dan menghilangkan penyebab inflamasi.

Secara umum, terdapat dua fase dalam proses peradangan, yaitu:

1. Fase vaskuler

Pada fase vaskular, terjadi vasodilatasi, yang meningkatkan aliran darah dan permeabilitas vaskular. Vasodilatasi menyebabkan peningkatan aliran darah ke area yang terluka dan menimbulkan kemerahan (rubors) serta rasa hangat (kalor). Peningkatan permeabilitas vaskular dipicu oleh histamin, kinins, dan mediator inflamasi lainnya, yang kemudian menyebabkan cairan kaya protein dan sel darah bocor ke jaringan ekstravaskular. Hal ini menyebabkan peningkatan tekanan osmotik cairan interstisial, sehingga lebih banyak air berpindah dari darah ke jaringan. Penumpukan cairan ekstravaskular menyebabkan pembengkakan jaringan. Terjadinya edema menyebabkan nyeri akibat peregangan jaringan oleh terjadinya edema dan pelepasan mediator nyeri seperti prostaglandin, bradykinin, dan histamin, yang dapat merangsang saraf perifer di sekitar jaringan yang meradang. Terjadinya edema dan nyeri menyebabkan pembatasan gerakan atau gangguan fungsi di area inflamasi.



Gambar 2.6. Manifestasi lokal peradangan akut

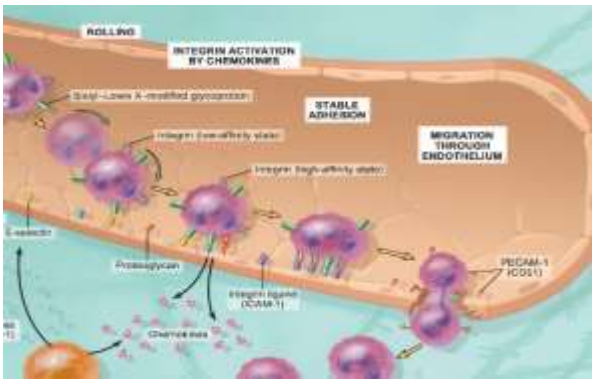
Gambar 2.6 Menjelaskan perbedaan antara pembuluh darah pada jaringan normal dan jaringan yang meradang. Pada jaringan yang meradang, terjadi vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas pembuluh darah, menyebabkan

neutrofil dan cairan protein merembes dari pembuluh darah. Penumpukan cairan protein plasma di ruang ekstravaskular menyebabkan edema.

2. Fase seluler

Pada fase ini, leukosit menumpuk dan aktif, lalu mengeliminasi patogen berbahaya. Leukosit diangkut dari darah ke jaringan ekstravaskular tempat agen infeksius atau jaringan yang rusak berada. Setelah leukosit menumpuk, mereka diaktifkan untuk menjalankan fungsinya, yang menyebabkan peningkatan fagositosis, produksi mediator inflamasi seperti asam arakidonat dan sitokin proinflamasi, serta peningkatan destruksi mikroba dan jaringan mati

yang telah difagositosis.



Gambar 2.7 Emigrasi leukosit pada inflamasi

Gambar 2.7. Menjelaskan migrasi leukosit dari lumen pembuluh darah ke jaringan, yang melibatkan proses bertahap yang dimediasi dan dikendalikan oleh molekul adhesi dan sitokin. Dalam kasus peradangan, leukosit yang beredar dalam darah diangkut ke lokasi kerusakan jaringan. Proses ini dibagi menjadi beberapa fase, meliputi adhesi leukosit ke endotel lokasi peradangan, transmigrasi leukosit melalui dinding pembuluh darah, dan pergerakan sel ke

lokasi inflamasi.

Anti-inflamasi merujuk pada bahan aktif atau obat yang menghambat proses peradangan. Obat anti-inflamasi nonsteroid (NSAID) adalah kelompok obat yang sering digunakan untuk mengobati peradangan. Obat-obatan ini menghambat enzim cyclooxygenase-1 (COX-1), yang dapat menimbulkan efek samping pada sistem gastrointestinal dan kardiovaskular, serta enzim cyclooxygenase-2 (COX-2). Karena efek samping ini, banyak penelitian telah dilakukan pada bahan alami untuk mencari alternatif bagi obat antiinflamasi modern.(Suryandari et al. 2021).

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 antiinflammatory 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% masyarakat di seluruh dunia masih menggunakan obat herbal sebagai pilihan utama untuk menjaga kesehatan. Untuk mengetahui efektivitas suatu obat tanpa melibatkan makhluk hidup secara langsung, dapat dilakukan uji in vitro. Metode ini dilakukan menggunakan bakteri, sel yang telah dipisahkan, atau organ tertentu yang diuji secara terpisah. Apabila hasil pengujian menunjukkan respons yang baik, maka penelitian dapat dilanjutkan ke tahap uji in vivo. Pengujian in-vitro memiliki sejumlah keunggulan, seperti waktu pelaksanaan akan lebih cepat, sampel yang digunakan lebih sedikit, serta tidak melibatkan hewan percobaan. Pengujian in-vitro bertujuan untuk menyaring sampel yang berpotensi dikembangkan sebagai obat. Metode in-vitro merupakan salah satu yang dapat dimanfaatkan adalah teknik penghambatan denaturasi protein (Firdaus et al., 2024).

Denaturasi protein merupakan 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 bahan utama dalam pengujian aktivitas antiinflamasi melalui mekanisme denaturasi protein. Penggunaan BSA dimaksudkan untuk mengurangi keterlibatan organisme hidup dalam tahap awal pengembangan obat. Ketika dipanaskan, protein BSA akan mengalami denaturasi berupa perubahan struktur protein. Proses inilah yang menjadi dasar dalam uji antiinflamasi secara in vitro. Setelah terjadi denaturasi, protein menunjukkan perubahan fisik, salah satunya ditandai dengan perubahan warna larutan dari bening menjadi keruh atau putih (Wulandari & Rosalinda, 2022).

Senyawa alami yang memiliki aktivitas antiinflamasi dapat menghambat terjadinya denaturasi protein, sehingga struktur protein tetap terjaga dan tidak mengalami kerusakan. Pengaruh ini dapat dilihat dari perubahan warna sampel setelah dipanaskan. Warna sampel yang semakin keruh atau putih menunjukkan bahwa protein telah mengalami denaturasi. Sebaliknya, apabila sampel tetap bening atau hanya mengalami sedikit perubahan warna, hal tersebut menandakan bahwa protein masih stabil. Perubahan ini selanjutnya dianalisis dengan mengukur nilai absorbansi pada panjang gelombang 660 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dan data 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

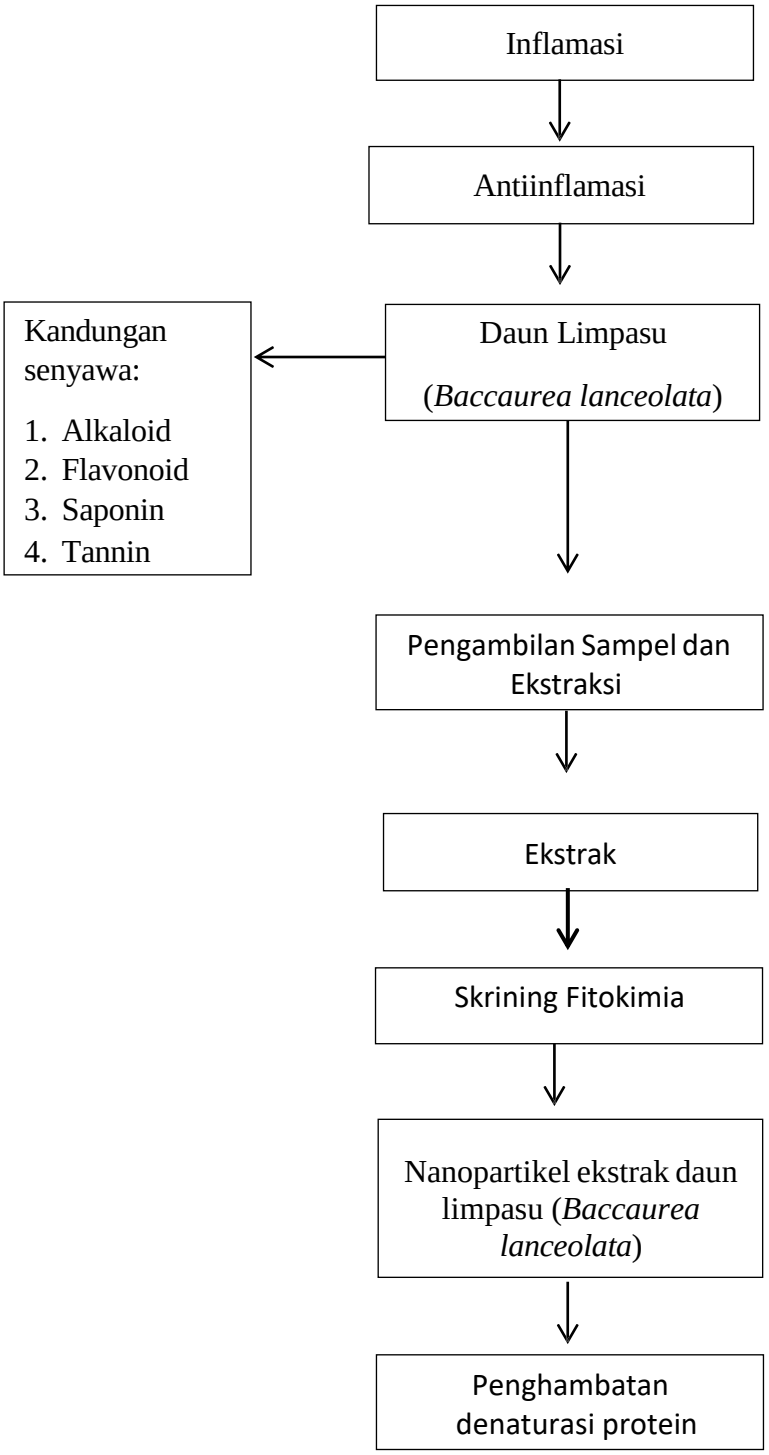
Salah satu alat yang paling umum digunakan dalam analisis kimia adalah spektrofotometer UV-Vis, yang bekerja dengan mengukur absorbansi cahaya foton. Sebelum pengukuran, sampel harus dipersiapkan agar dapat menyerap cahaya dalam rentang panjang gelombang UV-Vis (200-700 nm). Proses persiapan ini dapat 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

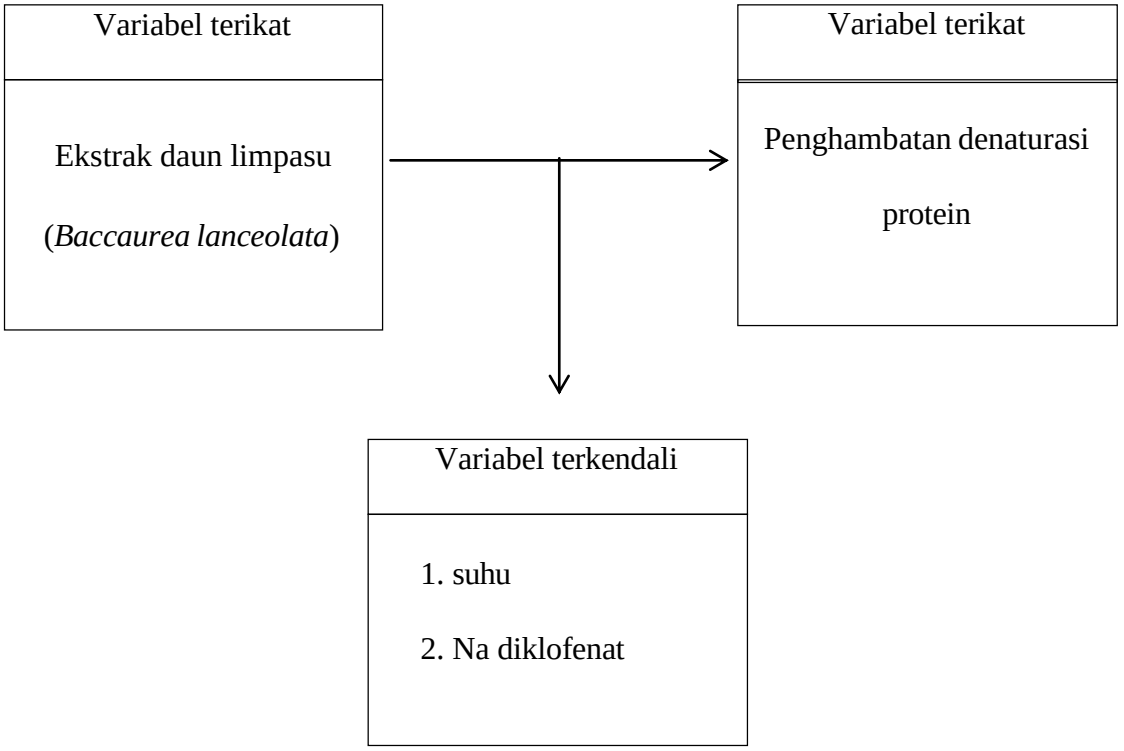
spektrofotometri UV-Vis yang paling sering digunakan. Instrumen single-beam memungkinkan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang tunggal secara kuantitatif. Keunggulan dari spektrofotometer single-beam meliputi kemudahan penggunaan, biaya yang lebih rendah, dan efisiensi dalam pengeluaran. Di sisi 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 2.6 kerangka teori

I. Kerangka Konsep



Gambar 2.7 kerangka konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental 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, laboratorium instrumen farmasi, dan laboratorium farmakologi farmasi. Universitas megarezky makassar pada bulan juni 2025 sampai selesai.

C. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat Penelitian

   Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi Pipet volume, batang pengaduk, spatula, termometer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, Erlenmeyer, cawan porselin, labu ukur (25 mL, dan 5 mL) (Iwaki), botol vial, kuvet, botol kaca gelap, pH meter, timbangan analitik (AND), rotary evaporator, instrument spektrofotometri UV- Vis (Orion AQUAMATE 8000), buret, dan magnetic stirrer.

2. Bahan Penelitian

   Bahan yang digunakan daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*) adalah etanol 96%, Etanol 70%, aquades, logam Mg, HCl, pereaksi wagner, FeCl3, bovine serum albumin (BSA) (nitra kimia), tris buffer saline (TBS) (bio gear), NaCl (Merck), asam asetat glasial, kitosan, propilen glikol, dimetil sulfoksida,

natrium tripolifosfat, dan natrium diklofenak.

D. Populasi dan Sampel

1. Populasi

   Populasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tanaman limpasu (*Baccaurea lanceolata*) yang diambil di Kec. Tabulaha, Kab. Mamasa, Sulawesi Barat.

2. Sampel

   Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Ekstrak etanol daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*).

E. Prosedur Kerja

1. Pengelolaan bahan menjadi simplisia

   Pengambilan sampel daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*) dilakukan di pagi hari dengan tujuan untuk mendapatkan senyawa aktif yang tinggi. Setelah pengambilan sampel tersebut dikumpulkan dan dibersihkan atau dicuci dengan air mengalir agar terhindar dari mikroorganisme. Kemudian proses pengeringan dilakukan dengan cara penjemuran atau diangin-anginkan. Setelah daun limpasu mencapai kondisi kering, bahan kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk. Selanjutnya, pembuatan ekstrak etanol daun limpasu pada penelitian ini dilakukan dengan metode ekstraksi dingin, yaitu maserasi (Fajri et al., 2022).

2. Pembuatan ekstrak sampel

   Sebanyak 100 g serbuk daun limpasu dimasukkan ke dalam wadah

tertutup, kemudian direndam menggunakan 500 mL etanol 96% hasil destilasi. Perbandingan antara simplisia dan pelarut yang digunakan adalah 1:5 (b/v). Proses maserasi dilakukan hingga larutan berwarna relatif jernih, dengan ketentuan setiap 24 jam dilakukan penyaringan dan penggantian pelarut. Tahapan ini bertujuan untuk memperoleh ekstrak etanol daun limpasu (EE) (Wahyuni et al., 2020).

3. Pengujian fitokimia

   a. Flavonoid

      Sebanyak 2 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dipanaskan selama 5 menit. Setelah proses pemanasan, sampel ditambahkan 0,1 g serbuk logam magnesium dan lima tetes asam klorida (HCl) pekat. Terbentuknya warna kuning jingga hingga merah menunjukkan hasil uji yang positif (Romansyah et al., 2019).

   b. Alkaloid

      Pengujian alkaloid dilakukan dengan menambahkan tiga tetes pereaksi Wagner ke dalam 2 mL sampel ekstrak. Munculnya warna cokelat menandakan bahwa sampel positif mengandung alkaloid (Wahid & Safwan, 2020).

   c. Saponin

      Sebanyak 3 mL sampel ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air panas. Setelah larutan didinginkan, sampel dikocok kuat selama 10 detik dan ditambahkan satu tetes asam klorida (HCl) pekat. Terbentuknya busa yang stabil dan tidak hilang

menunjukkan hasil positif adanya saponin (Wahid & Safwan, 2020).

d. Tanin

Uji tanin dilakukan dengan memanaskan 3 mL sampel ekstrak selama 5 menit, kemudian ditambahkan lima tetes larutan $FeCl_3$ 1%. Terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin.

4. Pembuatan Nanopartikel dari Ekstrak Etanol 96% Daun Limpasu

Sebanyak 1 g kitosan dilarutkan dalam 100 mL larutan asam asetat glasial 1% menggunakan magnetic stirrer hingga diperoleh larutan kitosan dengan konsentrasi 1% (b/v). Selanjutnya, sebanyak 500 mg ekstrak etanol daun limpasu dilarutkan dalam campuran pelarut yang terdiri atas 20 mL propilenglikol, 20 mL etanol 70%, dan 20 mL DMSO 10%, kemudian ditambahkan 100 mL aquadest. Larutan kitosan 1% (b/v) sebanyak 40 mL selanjutnya dimasukkan ke dalam campuran tersebut sehingga konsentrasi akhir kitosan menjadi 0,2%. Campuran diaduk menggunakan magnetic stirrer selama 10 menit, kemudian ditambahkan 20 mL larutan natrium tripolifosfat (NaTPP) 0,4% secara bertahap menggunakan buret dengan kecepatan penetesan satu tetes setiap tiga detik pada kecepatan pengadukan 300 rpm hingga terbentuk nanopartikel, yang ditandai dengan munculnya kekeruhan homogen. Pengadukan dilanjutkan selama 15 menit untuk memperoleh suspensi nanopartikel ekstrak daun limpasu yang stabil. Selanjutnya, suspensi nanopartikel ekstrak etanol daun limpasu diuji kestabilannya selama lima hari dengan pengamatan terhadap perubahan warna, terbentuknya endapan, dan bau.

5. Pembuatan Serbuk Nanopartikel Ekstrak Daun Limpasu dengan Metode Spray Drying

   Suspensi nanopartikel ekstrak daun limpasu selanjutnya dikeringkan menggunakan alat pengering semprot (hairdryer) dengan suhu inlet sebesar 160 °C sehingga diperoleh serbuk nanopartikel ekstrak daun limpasu.

6. Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Limpasu secara In Vitro

   Uji aktivitas antiinflamasi nanopartikel ekstrak etanol daun limpasu secara in vitro dilakukan berdasarkan metode penghambatan denaturasi protein, dengan tahapan sebagai berikut:

   a. Pembuatan Tris Buffer Saline (TBS).

      Sebanyak 4,35 g NaCl dilarutkan dalam 200 mL aquadest, kemudian ditambahkan 605 mg Tris Base dan dicukupkan dengan air hingga volume 400 mL. Selanjutnya, pH larutan disesuaikan menjadi 6,3 dengan penambahan asam asetat glasial, kemudian volume larutan ditambahkan aquadest hingga mencapai 500 mL.

   b. Pembuatan 0,2% BSA dalam TBS.

      Bovine Serum Albumin (BSA) sebanyak 0,2 g dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan menggunakan larutan TBS hingga tanda batas.

   c. Pembuatan Larutan Natrium Diklofenak sebagai Kontrol Positif.

      Sebanyak 25 mg natrium diklofenak dilarutkan dalam labu ukur 25 mL menggunakan aquadest hingga volume tercapai. Larutan induk kemudian diencerkan untuk memperoleh variasi konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60,

dan 70 ppm.

d. Pembuatan Kontrol Negatif.

   Kontrol negatif dibuat dengan menambahkan 50 µL etanol ke dalam larutan BSA 0,2% dalam TBS, kemudian dicukupkan volumenya hingga 5 mL.

e. Pembuatan Larutan Kontrol Blanko. Larutan kontrol blanko yang digunakan dalam pengujian ini adalah aquadest.

f. Pengujian Aktivitas Antiinflamasi Larutan Uji.

   Sebanyak 500 µL larutan uji dipipet, kemudian ditambahkan larutan BSA 0,2% hingga volume akhir 5 mL sehingga diperoleh variasi konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm. Masing-masing larutan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ±37 °C, kemudian dipanaskan selama 5 menit pada suhu ±70 °C dan didinginkan hingga suhu ruang. Setelah itu, larutan dikocok kuat dan diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 660 nm (Farida et al., 2018).

Nilai IC dihitung dengan menentukan persamaan regresi linear antara konsentrasi sebagai variabel bebas (X) dan persentase inhibisi sebagai variabel terikat (Y).

F. Analisis Data

Dalam penelitian ini pengolahan data diperoleh dari analisis untuk mengetahui antivitas anatiinflamasi secara invitro dengan menggunakan metode denaturasi protein pada ekstrak nanopartikel daun limpasu (*Baccaurea*

lanceolata). Data diperoleh dari pengujian dianalisis secara kuantitatif untuk mengetahui tingkat aktivitas antiinflamasi esktrak nanopartikel. Setiap pengukuran dilakukan tiga kali pengulangan, kemudian dicatat dan hitung nilai rata-ratanya. Nilai rata-rata tersebut digunakan untuk menentukan persentase penghambatan yang diperoleh pada setiap variasi konsentrasi digunakan untuk melihat hubungan antara konsentrasi dan tingkat aktivitas yang dihasilkan.

G. Perhitungan lC_{50}

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

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

$$IC_{50} = C1 + \frac{(50 - M1)}{(M2 - M1)} \times (C2 - C1)$$

Keterangan :

C1: Konsentrasi lebih rendah (dibawah 50%)

C2: Konsentrasi lebih tinggi (diatas 50%)

M1: rata-rata persentase inhibisi pada C1

M2: rata-rata persentase inhibisi pada C2

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil rendemen ekstrak daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*)

Table 4.1

Persen rendamen daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*)

Bobot sampel (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendeman (%)
500	51,60	10.32

2. Hasil skrining ekstrak daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*)

Tabel 4.2

Hasil skrining fitokimia

Senyawa	Keterangan	Hasil Uji Fitokimia
Flavonoid	+	Warna orange kekuningan
Alkaloid	+	Warna kecoklatan
Saponin	+	Busa yang berbentuk tidak hilang
Tannin	+	warna biru tua atau hijau kehitaman

Ket:

(+) : positif/ terdapat senyawa metabolit sekunder

3. Hasil % inhibisi BSA oleh nanopartikel ekstrak daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*)

Tabel 4.3

Hasil pengujian ekstrak nanopartikel daun limpasu

Konsentrasi (ppm)	Pengulangan			Rata-rata absorbansi	%inhibisi	IC_{50}
	1	2	3			
10	0,8576	0,8580	0,8582	0,8579	38,18%	33,52

20	0,8046	0,8045	0,8044	0,8045	42,10%
30	0,7689	0,7583	0,7539	0,7603	44,99%
40	0,6638	0,6625	0,6347	0,6536	52,95%
50	0,5489	0,5327	0,5294	0,5370	61,64%
60	0,4976	0,4921	0,4870	0,4922	64,53%
70	0,4686	0,4593	0,4207	0,4495	68,15%
Blanko	0,3784	0,3803	0,3865		

4. Grafik BSA oleh nanopartikel ekstrak daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*)

Tabel 4.4

Grafik penghambatan denaturasi protein oleh nanopartikel ekstrak daun limpasu



5. Hasil % inhibisi natrium diklofenak

Table 4.5

Hasil pengujian natrium diklofenak

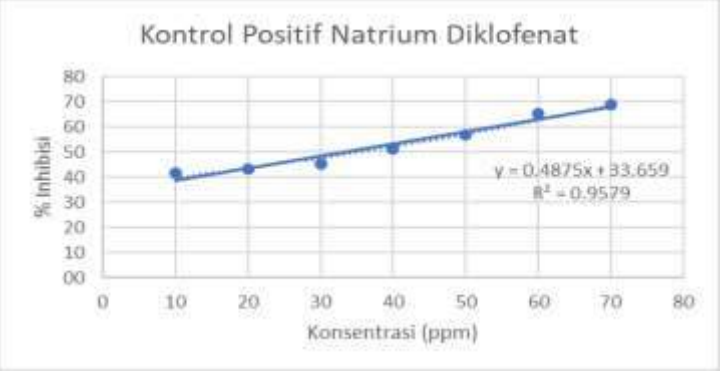
Konsentrasi (ppm)	**Pengulangan**			**Rata-rata absorbansi**	**%inhibisi**	**IC_{50}**
	1	**2**	**3**			
10	0,8176	0,8043	0,8022	0,8080	41,52%	34,5
20	0,7862	0,7815	0,7769	0,7815	43,43%	
30	0,7596	0,7553	0,7551	0,7566	45,24%	
40	0,6809	0,6730	0,6645	0,6728	51,50%	
50	0,6047	0,5977	0,5905	0,5985	57,29%	
60	0,4846	0,4837	0,4753	0,4812	65,17%	

70	0,4372	0,4315	0,4289	0,4325	68,69%
Blanko	0,3784	0,3803	0,3865		

6. Grafik BSA oleh natrium diklofenak

Tabel 4.6

Grafik penghambatan denaturasi protein oleh natrium diklofenak



B. Pembahasan

Inflamasi merupakan mekanisme pertahanan tubuh yang muncul akibat adanya kerusakan jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, paparan bahan kimia, maupun agen mikrobiologis. Respons inflamasi terjadi melalui pelepasan berbagai mediator inflamasi yang bekerja melalui jalur asam arakidonat, salah satunya prostaglandin yang terbentuk dari metabolisme asam arakidonat oleh enzim siklooksigenase (Reynaldi & Yani, 2021). Inflamasi banyak ditemukan pada manusia dan hewan, dengan gejala berupa kemerahan, peningkatan suhu lokal, pembengkakan, nyeri, serta penurunan atau hilangnya fungsi jaringan. Selain itu, inflamasi juga ditandai dengan meningkatnya permeabilitas membran, terjadinya denaturasi protein, dan kerusakan membran sel. Apabila proses inflamasi berlangsung secara terus-menerus tanpa penanganan, kondisi ini dapat berkembang menjadi penyakit kronis seperti rheumatoid arthritis dan aterosklerosis (Novika et

al.).

Obat antiinflamasi yang berasal dari alam merupakan salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi inflamasi dengan keuntungan yaitu pengobatan bahan alam lebih murah, mudah dan aman digunakan karena efek samping yang lebih minimal disbanding obat modern. Salah satu sumber bahan alam yang berpotensi dimanfaatkan sebagai obat tradisional dan diduga memiliki aktivitas antiinflamasi yaitu tanaman limpasu bagian daun karena mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tannin dan saponin.

Aktivitas antiinflamasi diuji menggunakan metode denaturasi protein, dengan sampel penelitian berupa daun limpasu sebagai sampel karena diketahui pada daun limpasu ditemukan senyawa yang berkhasiat sebagai antiinflamasi. Langkah awal yang dilakukan yaitu pengambilan sampel, pengelolahan simplisia, dan membuat ekstrak daun limpasu. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode dingin, yaitu maserasi. Pemilihan metode ekstraksi tanpa pemanasan bertujuan untuk menghindari paparan suhu tinggi yang berpotensi merusak senyawa-senyawa yang bersifat termolabil, khususnya komponen aktif yang memiliki aktivitas antiinflamasi. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah etanol 96% yang besifat polar dengan konsentrasi etanol hampir murni sehingga dapat melarutkan lebih banyak senyawa bioaktif tanpa menyebabkan degradasi akibat air berlebihan. Selain itu, etanol 96% aman, mudah menguap, stabil dan dapat mencegah pertumbuhan mikroba.

Ekstrak etanol daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*) diperoleh sebanyak 51,60 g dengan rendemen 10,32%. Proses ekstraksi melibatkan kontak antara bahan

dengan pelarut. Beberapa faktor yang mempengaruhi 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, dengan penurunan konsentrasi secara bertahap, mulai dari konsentrasi tertinggi hingga terendah. 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, 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 yang 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 FeCl3 1%. Hasil skrining yang di dapatkan pada tabel 4.2 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.

Senyawa yang berkhasiat sebagai antiinflamasi salah satunya yaitu flavonoid yang merupakan senyawa metabolit sekunder tumbuhan yang diketahui memiliki antiinflamasi melalui beberapa mekanisme biologi. Secara umum, flavonoid dapat menghambat enzim pro-inflamasi seperti sikooksigenase (COX) yang berperan dalam konversi asam arakidonat menjadi mediator inflamasi (prostaglandin) sehingga terjadi penurunan inflamasi. Flavonoid juga berfungsi menstabilkan membrane sel dan menghambat pelepasan mediator inflamasi seperti histamin dan prostaglandin dari sel jaringan yang mengalami inflamasi, sehingga mengurangi pembengkakan dan kerusakan jaringan (Widyasti, 2024).

Alkaloid adalah senyawa nitrogen heterosiklik alami dengan beragam efek, termasuk antiinflamasi yang bekerja dengan cara menghambat mediator peradangan, menekan pelepasan histain, menangkap radikal bebas, menghambat enzim kunci, serta memodulasi jalur sinyal inflamasi ntuk meredakan pembengkakan dan kerusakan jaringan.

Secara umum tannin yang berperan penting dalam meningkatkan persen inhibisi. Tannin mempunyai sifat khas yang dapat membentuk kompleks dengan protein. Kompleks ini terjadi melalui pembentukan ikatan hydrogen anatara gugus hidroksil tannin dengan gugus polar pada protein, serta interaksi hidrofobik dengan rantai samping asam amino non-polar. Akibatnya, struktir protein menjadi lebih stabil dan tahan terhadap denaturasi panas. Mekanisme inilah menjelaskan mengapa

kehadiran tannin dalam ekstrak turut memperkuat daya inhibisi terhadap denaturasi protein (Fitriana et al.,2024).

Selain tanin, alkaloid juga memiliki potensi sebagai agen antiinflamasi karena kemampuannya dalam menghambat pembentukan sitokin proinflamasi. Senyawa alkaloid diketahui dapat menekan aktivitas enzim lipoksigenase, siklooksigenase-1 (COX-1), siklooksigenase-2 (COX-2), serta menurunkan produksi prostaglandin yang berperan dalam proses inflamasi (Fitriyani & Fatahillah, 2022).

Setelah dilakukan pengujian skrining fitokimia, maka dilanjutkan dengan esktrak daun limpasu diolah menjadi nanopartikel esktrak dengan kitosan dan NaTTP sebagai bahan utama pembuatan nanopartikel. Kitosan terbuat dari kitin, sebuah senyawa alami yang diperoleh dari limbah kulit atau cangkang krustasea, terutama udang**,** kepiting, lobster, dan rajungan. Bahan baku ini kemudian diproses secara kimiawi (deasetilasi) untuk menghilangkan gugus asetil, menghasilkan kitosan yang merupakan biopolimer bermanfaat. Dimana kitosan ini memiliki banyak manfaat seperti pengawet makanan, bahan antibakteri dalam bentuk formulasi membran pembalut luka, sebagai pengisi dalam pembuatan sabun transparan dan memiliki kemampuan untuk mempercepat penyembuhan luka karena sifatnya yang dapat meningkatkan proliferasi fibroblast (Rizki et al, 2023). Sedangkan NaTTP digunakan karena tidak mutagenic, karsinogenik, dan toksisitas yang rendah. Kitosan memiliki kemampuan penyerapan air yang sangat cepat sehingga tingkat pembengkakan kitosan pada lingkungan air cukup tinggi. Maka dilakukan penambahan NaTTP sehingga membentuk turunan kitosan dengan

meningkatnya biokompatibilitas swelling dan penurunan deraat swelling yang amat tinggi (Samudra et al.,2021). Selain itu, NaTTP juga ditambahkan sebagai agen penurun tegangan permukaan yang dapat menstabilkan partikel dalam larutan sehingga pengumpulan antar partikel dapat terhindar (Kusumawardany et al., 2023).

Pengujian stabilitas nanopartikel pada uji organoleptik secara visual nanopartikel yang hasilkan menghasilkan warna yang sama, sedangkan bau yang dihasilkan juga tidak ada perbedaan yakni khas asam asetat.

Metode penghambatan denaturasi protein terhadap bovine serum albumin. Hal ini dipilih dengan alasan bahwa denaturasi protein dalam jaringan adalah salah satu penyebab inflamasi. Menurut William (2008) bahwa senyawa atau ekstrak yang beraktivitas sebagai antiinflamasi dengan metode penghambatan denaturasi protein jika dipersentasekan inhibisi denaturasi protein lebih besar dari 20%. Persentase inhibisi denaturasi protein diperoleh dari hasil pegukuran absorbasnsi suatu senyawa dengan spektrofotometri Uv-Vis pada Panjang gelombang 600 nanometer.

Bovine Serum Albumin (BSA) pada penelitian ini digunakan karena mudah diperoleh, mudah larut dengan baik dalam berbagai pelarut, memiliki biaya ekonomis dan mengurangi ketergantungan penggunaan hewan uji hidup dalam proses penemuan dan pengembangan obat, serta kerusakan atau perubahan struktur denaturasi protein dapat menimbulkan respon inflamasi paada jaringan tubuh, sehingga lebih relevan untuk mengevaluasi potensi antiinflamasi suatu senyawa.

Denaturasi protein adalah proses perubahan struktur sekunder dan tersier

protein atau asam nukleut 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 cepat dan mengakibatkan kerusakan para struktur protein. BSA memiliki pH optimal sekitar 7, sehingga digunakan larutan TBS yang memiliki kisaran pH antara 6,25 hingga 6,70. TBS sehingga merupakan campuran dari larutan Tris Base dan natrium klorida (NaCl). Setelah dilakukan nilai tingkat keasaman didapatkan bahwa nilai pH BSA yaitu 6,3. Nilai tersebut termasuk dalam range nilai pH BSA yaitu 6,25 hingga 6,70.

Kemudian dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antiinflamasi nanopartikel ekstrak etanol daun limpasu dengan metode penghambatan denaturasi protein. Penelitian ini menggunakan dua jenis control yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol negatif yang digunakan yaitu larutan BSA 0,2%.

Sedangkan pada kontrol positif digunakan natrium diklofenak karena memiliki mekanisme kerja, yang sama dengan flavonoid yaitu menghambat enzimcyclooxygenase dan lipoxygenase sehiggah pembentukan prostaglandin terhambat lalu menghasilkan efek antiinflamasi, dan salah saatu bahan yang digunakan dalam pembuata larutan 0,2% BSA-TBS yang juga menggunakan senyawa natrium.

Keunggulan esktrak daun limpasu dibandingkan kontrol positif tidak hanya

terletak pada senyawa, melainkan pada keragaman senyawa bioaktif yang dikandungnya. Interaksi sinergis antar senyawa menyebabkan efek biologis yang lebih besar. Flavonoid, tannin, polifenol, dan saponin bekerja bersama dalam menstrabilkan protein dan mencegah denaturasi, sehingga efek total yang dihasilkan lebih tinggi. Oleh karena itu, tingginya persentase inhibisi nanopartikel ekstrak daun limpasu menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki potensi antiinflamasi yang kuat melalui mekanisme stabilitas protein dan aktivitas antioksidan yang terbuktuh lebih efektif dibandingkan kontrol positif dengan metode denaturasi protein (Fitriana *et al*., 2024).

Pengujian persen inhibisi BSA oleh nanopartikel 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 38,18% dan terus meningkat hingga mencapai 68,15% pada konsentrasi 70 ppm. Pola ini menunjukkan bahwa nanopartikel ekstrak daun limpasu memiliki kemampuan menghambat denaturasi BSA secara dosedependent, 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.

Table hasil natrium diklofenak di konsentrasi terendah (10 ppm), % inhibisi tercatat sebesar 41,52%. Nilai ini menunjukkan kemampuan awal sampel dalam menghambat proses denaturasi protein akibat paparan panas. Sedangkan pada 30

ppm dan 40 ppm mengalami pengingkatan yang sangat signifikan terjadi yaitu 45,24% dan 51,50%. Hal ini menunjukkan adanya hubungan dosedependent, di mana jumlah senyawa aktif yang lebih banyak mampu memberikanperlindungan protein yang lebih tinggi terhadap denaturasi. 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.

Tingginya nilai persen inhibisi pada konsentrasi rendah (>20% pada 10 ppm) menunjukkan bahwa nanopartikel ekstrak daun limpasu mengandung bioaktif yang mampu memberikan efek antiinflamasi secara efektif. Aktivitas ini diduga berasal dari flavonoid yang memang dikenal memiliki kemampuan menghambat peradangan melalui mekanisme stabilisasi protein serta penghambatan mediator inflamasi. Hal ini sejalan dengan penelitian dengan beberapa spesies baccaurea yang memiliki aktivitas farmakologis, termasuk pada sifat antioksidan yang berkaitan dengan pencegahan denaturasi protein, jika dibandingkan dengan tanaman lain dengan pengujian serupa, maka aktivitas penghambatan ekstrak daun limpasu pada konsentrasi tinggi tergolong kuat, menunjukkan potensi sebagai kandidat sumber bahan anti-inflamasi alami.

Berdasarkan tabel hasil penelitian, uji hambat denaturasi protein

menggunakan metode BSA menunjukkan bahwa ekstrak nanopartikel daun limpasu (*Baccaurea lanceolata)* memiliki aktivitas antiinflamasi pada konsentrasi 10 ppm didapatkan hasil persentase inhibisi sebesar 38,18%, 20 ppm (42,10%), 30 ppm (44,99%), 40 ppm (52,59%), 50 ppm (51,64%), 60 ppm (64,53%), dan 70 ppm (68,15%). Dengan nilai IC_{50} sebesar 33,52 ppm. Menunjukkan bahwa datap menghambat 50% aktivitas daya hambatan denaturasi protein dari ekstrak nanopartikel daun limpasu.

Pengujian aktivitas antiinflamasi melalui metode penghambatan denaturasi protein menggunakan natrium diklofenak sebagai kontrol positif. Natrium diklofenak menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang ditandai dengan nilai persentase inhibisi denaturasi protein yang melebihi 20% pada konsentrasi 10 ppm. Hasil pengujian menunjukkan persentase inhibisi sebesar 41,52% pada konsentrasi 10 ppm, 43,43% pada 20 ppm, 45,24% pada 30 ppm, 51,50% pada 40 ppm, 57,29% pada 50 ppm, 65,17% pada 60 ppm, dan 68,69% pada 70 ppm. Perbedaan nilai persentase inhibisi terlihat pada setiap variasi konsentrasi, di mana peningkatan konsentrasi natrium diklofenak sejalan dengan meningkatnya persentase inhibisi denaturasi protein. Pola peningkatan ini menunjukkan adanya hubungan yang linear antara konsentrasi dengan persen inhibisi yang dihasilkan. Dari hasil perhitungan diperoleh nilai IC_{50} sebesar 34,5 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan denaturasi protein dari nanopartikel ekstrak daun limpasu hampir sebanding dengan natrium diklofenak. nanopartikel ekstrak daun limpasu memiliki potensi antiinflamasi yang relatif sama dengan obat standar yang digunakan secara klinis (novika, ahsannisa, and yani 2021).

Berdasarkan data tersebut, maka potensi penghambatan denaturasi protein yang dimiliki oleh nanopartikel ekstrak daun limpasu lebih tinggi dibandingkan dengan larutan kontrol positifnya. Hal tersebut berkaitan erat dengan keberadaan senyawa metabolit sekunder di dalam ekstrak, yang terdiri atas flavonoid, tannin, polifenol, dan saponin. Senyawa-senyawa ini diketahui memiliki kemampuan dalam mencegah kerusakan struktur protein melalui mekanisme, baik dengan menstabilkan protein, melindungi dari kerusakan oksidatif, maupun berperan langsung dalam megurangi proses inflamasi (fitriana et al., 2024)

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

Pada penelitian ini, perhitungan IC_{50} dilakukan dengan metode interpolasi linear. Metode ini dipilih karena bentuk hubungan antar konsentrasi dan persen inhibisi pada rentang disekitar 50% cenderung linear, 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 diantara dua titik hasilpengujian yang mengapit nilai tersebut.

Tahap selanjutnya dilakukan analisis data menggunakan metode regresi linear. Regresi linear merupakan teknik statistika yang digunakan untuk

memodelkan hubungan antara satu atau beberapa variabel bebas (X) dengan variabel terikat atau respon (Y) (Reynaldi & Tani, 2021).

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan, dapat disimpulkan bahwa:

Pengujian aktivitas antiinflamasi dengan metode penghambatan denaturasi protein bovine serum albumin (BSA) menunjukkan bahwa nanopartikel ekstrak daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*) memiliki kemampuan dalam menghambat proses denaturasi protein dengan persentase yang bervariasi tergantung pada konsentrasi yang digunakan, nilai rata-rata yang dihasilkan dari % inhibisi > 20% dianggap memiliki aktivitas antiinflamasi kuat yaitu pada konsentrasi 10 ppm (38,18%). Tingginya nilai persen inhibisi pada konsentrasi rendah menunjukkan bahwa nanopartikel ekstrak daun limpasu mengandung bioaktif yang mampu memberikan efek antiinflamasi secara efektif.

B. Saran

Peneliti menyarakan agar penelitian selanjutnya dilakukan pengujian lanjutan terhadap nanopartikel ekstrak daun limpasu (*Baccaurea lanceolata*), dengan pengujian biologis lanjutan lainnya agar diperoleh data yang lebih komprehensif mengenai manfaat dan potensi terhadap daun limpasu tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

Azizah, Nurul, Nur Syamsi, Christin Rony Nayoan, and Andi Alfia Muthmainnah Tanra. 2022. "Uji Efektivitas Ekstrak Herbal Daun Sambiloto (Andrographis Panicula) Terhadap Kadar Gula Darah Pada Tikus Putih (Rattus Norvegicius) Jantan Yang Di Induksi Aloksan." *J. Kesehatan Tadulako* 8(3):172–79.

Fajri, F., Junita, N., & Yusuf, S. N. A. (2022). Formulasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Obat Kumur Ekstrak Etanol Daun Mengkudu (Morinda Citrifolia L.) Terhadap Bakteri Streptococcus Mutans. *Pharmacology And Pharmacy Scientific Journals, 1*(2), 61–74.

Fatimawali, Billy J. Kepel, and Widdhi Bodhi. 2020. "Standarisasi Parameter Spesifik Dan Non-Spesifik Ekstrak Rimpang." *Jurnal EBiomedik.* 8(1):63–67.

Farida, Y., Rahmat, D., & Widia Amanda, A. (2018). Uji Aktivitas Antiinflamasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein (Anti-Inflammation Activity Test of Nanoparticles Ethanol Extract of Temulawak Rhizome (Curcuma xanthorrhi. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, *16*(2), 225–230.

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.

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.

Handoyo, D.L.Y 2020. "The Influence Of Maseration Time (Immertation) On The Vocity Of Birthleaf Extract (*Piper betle* L.). Jurnal Farmasi Tinctura. 2(1):34-41.

Kusumawardany, S. F, Utami N, and Saryanti, D 2023. " Fotoproteksi dan aktivitas antioksidan nanoenkapsulasi ekstrak etanol buah kersen (*Muntingia calabura* L.) majalah farmasi dan farmakologi, 27:133-139

Nastiti, Kunti, Samsul Hadi, and Endang Lukitaningsih. 2020. "Antioxidant Activity from Baccaurea LanceolataMuell. Arg Fruit." 3:4–8.

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.

Rahman, Rauli Dimas Nur, Supomo Supomo, and Husnul Warnida. 2023. "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Baccaurea Lanceolata Fructus Dengan Metode ABTS Dan DPPH." *JI-KES (Jurnal Ilmu Kesehatan)* 6(2):155–61.

Reynaldi andi fitri yani, D. (2021) " The anti-inflammatory potential of cocor bebek leaves (kalanchoe pinnata L.) Against in vitro protein denaturation, spin 3(1):12-21

Rizki dewi, ridwanto, zulmai rani. (2023). "Isolasi dan identifikasi kitosan dari cangkang kerang bulu (*anadara antiquata*)". Jurnal media farmasi, 19(2).

Romansyah, E., Sinthia Dewi, E., Suhairin, S., Muanah, M., & Ridho, R. (2019). Identifikasi Senyawa Kimia Daun Bambu Segar Sebagai Bahan Penetral Limbah Cair. *Jurnal Agrotek Ummat*, 6(2): 77.

Sari E.K., Dellima, B.R.E.M., and Azizah, F.N (2025) "Uji Aktivitas antiiflamasi Ekstrak Etanol Daun Sereh Wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dengan metode denatrasi protein". Jurnal Ilmu Kefarmasian, 6(1): 1-11.

Soemarie, Y. B. (2024). *Etnofarmasi Khas Kalimantan*

Suryandari, Syari Sekar, Edwin De Queljoe, and Olvie S. Datu. 2021. "Anti-Inflammatory Activity Test of Ethanol Extract of Sesewanua Leaves (Clerodendrum Squamatum Vahl.) Towards White Rats (Rattus Norvegicus L.) Induced by Carrageenan." *Pharmacon* 10(3):1025–32.

Wahid, A. R., & Safwan, S. (2020). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Terhadap Ekstrak Tanaman Ranting Patah Tulang (Euphorbia tirucalli L.). *Lumbung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, *1*(1), 24.

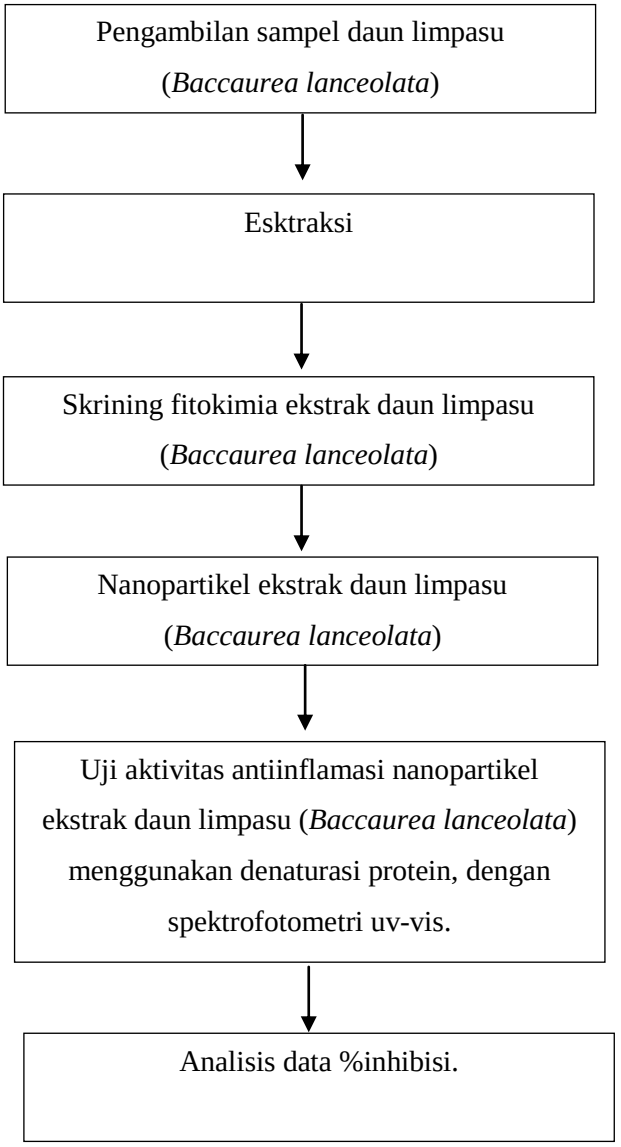
Wahyuni, N. M. S., Wrasiati, L. P., & Hartiati, A. (2020). Pengaruh Perlakuan Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bambu Duri (Bambusa blumeana) sebagai Sumber Antioksidan. *Jurnal Ilmiah Teknologi Pertanian Agrotechno*, *5*(1), 27.

Triyanti, S. B., Lestari, F. P., Anisa, P., Fitriana, N., & Rostiana, H. R. (2025). *Pengaruh Metode Ekstraksi Maserasi , Sonikasi , dan Sokletasi Terhadap Nilai Rendemen Sampel Kulit Buah Naga (Hylocereus polyrhizus)*. *8*(1), 71–78.

Yuliarni, F. F., Ayu, K., Lestari, P., Arisawati, D. K., Sari, D. W., & K, K. R. (2022). Vol. 14 No. 2 Maret 2022 ISSN: 1979-8415 PELARUT ETANOL DAN METANOL Vol. 14 No. 2 Maret 2022 ISSN: 1979-8415. *Jurnal Teknologi Technoscientia*, *14*(2), 129–137

LAMPIRAN 1

Skema Kerja



LAMPIRAN 2

Perhitungan

1. Perhitungan % Rendamen

$$\%\ Rendamen = \frac{Berat\ Ekstrak}{Bahan\ Baku\ Kering} \times 100\%$$

$$\%\ Rendamen = \frac{Berat\ Ekstrak}{Bahan\ Baku\ Kering} \times 100\%$$

$$= \frac{Berat\ Ekstrak}{Bahan\ Baku\ Kering} \times 100\%$$

=

2. Perhitungan % inhibisi daun Limpasu

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

a. Konsentrasi 10 ppm

$$\%\ \text{Inhibisi} = \frac{1{,}3817 - 0{,}8579}{1{,}3817} \times 100\%$$

= 38,18%

b. Konsentrasi 20 ppm

$$\%\ \text{Inhibisi} = \frac{1{,}3817 - 0{,}8045}{1{,}3817} \times 100\%$$

= 42,10%

c. Konsentrasi 30 ppm

$$\%\ \text{Inhibisi} = \frac{1{,}3817 - 0{,}7603}{1{,}3817} \times 100\%$$

= 44.99%

d. Konsentrasi 40 ppm

$$\%\ \text{Inhibisi} = \frac{1{,}3817 - 0{,}6536}{1{,}3817} \times 100\%$$

= 52,95%

e. Konsentrasi 50 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1{,}3817 - 0{,}5370}{1{,}3817} \times 100\%$$

= 61,64%

f. Konsentrasi 60 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1{,}3817 - 0{,}4922}{1{,}3817} \times 100\%$$

= 64,53%

g. Konsentrasi 70 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1{,}3817 - 0{,}4495}{1{,}3817} \times 100\%$$

= 68,15%

3. Perhitungan % inhibisi Natrium Diklofenat

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1{,}3817 - absorbansi\ sampel}{1{,}3817} \times 100\%$$

a. Konsentrasi 10 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1{,}3817 - 0{,}8080}{1{,}3817} \times 100\%$$

= 41,52%

b. Konsentrasi 20 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1{,}3817 - 0{,}7815}{1{,}3817} \times 100\%$$

= 43,43%

c. Konsentrasi 30 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1{,}3817 - 0{,}7566}{1{,}3817} \times 100\%$$

= 45,24%

d. Konsentrasi 40 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1,3817 - 0,6728}{1,3817} \times 100\%$$

$$= 51,50\%$$

e. Konsentrasi 50 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1,3817 - 0,5985}{1,3817} \times 100\%$$

$$= 57,29\%$$

f. Konsentrasi 60 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1,3817 - 0,4812}{1,3817} \times 100\%$$

$$= 65,17\%$$

g. Konsentrasi 70 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{1,3817 - 0,4325}{1,3817} \times 100\%$$

$$= 68,69\%$$

h. Perhitungan IC_{50} daun Limpasu

$$IC_{50} = CI \begin{pmatrix} 50 & I1 \\ I1 & I2 \end{pmatrix} \times (C2 - C1)$$

Ket :

- C1, C2 = konsentrasi yang mengapit 50%
- *I*1, *I*2 = % inhibisi di C2 dan C1
- Contoh perhitungan :

C1 = 30 ppm, *I*1 = 44.99%

C2 = 40 ppm, *I*2 = 52,95%

$$IC_{50} = 30 \begin{pmatrix} 50 & 44,99 \\ 52,95 & 44,99 \end{pmatrix} \times (40 - 30)$$

$= 30 + \frac{5,01}{7,96} \times 10$

= 30 + 6,29

= 36,29 ppm

i. Perhitungan IC_{50} Natrium Diklofenat

$$IC_{50} = CI \begin{pmatrix} 50 & I1 \\ I1 & I2 \end{pmatrix} \times (C2 - C1)$$

Ket :

- C1, C2 = konsentrasi yang mengapit 50%
- *I*1, *I*2 = % inhibisi di C2 dan C1
- Contoh perhitungan :

C1 = 30 ppm, *I*1 = 45,24%

C2 = 40 ppm, *I*2 = 51,50%

$$IC_{50} = 30 \begin{pmatrix} 50 & 45,24 \\ 51,50 & 45,24 \end{pmatrix} \times (40 - 30)$$

$= 30 + \frac{4,76}{6,26} \times 10$

= 30 + 7,60

= 37,60 ppm

LAMPIRAN 3

DOKUMENTASI

1. Pembuatan Estrak



Gambar 1. Perajangan sampel daun limpasu



Gambar 2. Dilakukan perendaman selama 3×24 jam sesekali di aduk



Gambar 3. Maserat diuapkan menggunakan rotary evaporator



Gambar 4. Hasil ekstrak daun limpasu

2. Skrining



Gambar 1. Ekstrak daun limpasu positif flavonoid



Gambar 2. Ekstrak daun limpasu positif alkaloid

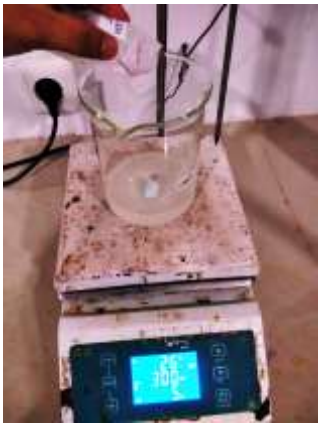


Gambar 3. Ekstrak daun limpasu positif tanin



Gambar 4. Ekstrak daun limpasu positif saponin

3. **Nanopartikel**



Gambar 1. Dilarutkan kitosan dengan asam asetat glasial menggunakan magnetic stirrer



Gambar 2. Dicampurkan pelarut dan STTP diaduk dgn kecepatan 1 tetes/ 3 detik dengan 300 rpm stirrer



Gambar 3. Didiamkan selama 5 hari untuk uji kestabilan



Gambar 4. Hasil nanopartikel ekstrak limpasu

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



Gambar 1. Dilarutkan NaCl dan tris buffer kedalam aquadest



Gambar 2. Ditambahkan asam asetat glasial



Gambar 3. Diukur pH



Gambar 1. Dicukupkan aquadest ad 500 mL

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



Gambar 1. Dituang BSA (*Bovine Serum Albumin*)



Gambar 2. Dilarutkan BSA dengan larutan Tris Buffer Saline

6. Pembuatan Kontrol negatif



Gambar 1. Sebanyak 50µ etanol dimasukkan ke labu ukur 5 mL lalu ditambahkan larutan BSA sampai tanda batasnya

7. **Pembuatan larutan uji & kontrol positif**



Gambar 1. Dilarutkan Natrium diklofenak dengan etanol

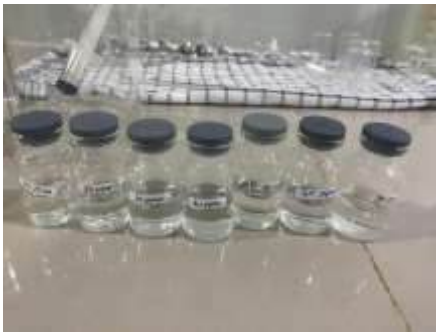


Gambar 2. Diencerkan masing-masing 10, 20, 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm dicukupkan dengan larutan BSA sampai tanda batas 5 mL

8. Pengujian aktivitas antiinflamasi larutan



Gambar 1. Nanopartikel esktrak daun limpasu dilarutkan dengan etanol



Gambar 2. Diencerkan masing-masing 10, 20, 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm dicukupkan dengan larutan BSA sampai tanda batas 5 mL

LAMPIRAN 4

Data absorbansi spektrovotometri Uv-vis

Result Data

Name	AU(660.00nm)
Ekstrak 10ppm-1	0,8576
Ekstrak 10ppm-2	0,8580
Ekstrak 10ppm-3	0,8582
Ekstrak 20ppm-1	0,8046
Ekstrak 20ppm-2	0,8045
Ekstrak 20ppm-3	0,8044
Ekstrak 30ppm-1	0,7689
Ekstrak 30ppm-2	0,7583
Ekstrak 30ppm-3	0,7539
Ekstrak 40ppm-1	0,6638
Ekstrak 40ppm-2	0,6625
Ekstrak 40ppm-3	0,6347
Ekstrak 50ppm-1	0,5489
Ekstrak 50ppm-2	0,5327
Ekstrak 50ppm-3	0,5294
Ekstrak 60ppm-1	0,4976
Ekstrak 60ppm-2	0,4921
Ekstrak 60ppm-3	0,4870
Ekstrak 70ppm-1	0,4686
Ekstrak 70ppm-2	0,4593
Ekstrak 70ppm-3	0,4207
Kontrol positif 10ppm-1	0,8176
Kontrol positif 10ppm-2	0,8043
Kontrol positif 10ppm-3	0,8022
Kontrol positif 20ppm-1	0,7862
Kontrol positif 20ppm-2	0,7815
Kontrol positif 20ppm-3	0,7769
Kontrol positif 30ppm-1	0,7596
Kontrol positif 30ppm-2	0,7553
Kontrol positif 30ppm-3	0,7551
Kontrol positif 40ppm-1	0,6809
Kontrol positif 40ppm-2	0,6730

Page 1

Kontrol positif 40ppm-3	0,6645
Kontrol positif 50ppm-1	0,6047
Kontrol positif 50ppm-2	0,5977
Kontrol positif 50ppm-3	0,5905
Kontrol positif 60ppm-1	0,4846
Kontrol positif 60ppm-2	0,4837
Kontrol positif 60ppm-3	0,4753
Kontrol positif 70ppm-1	0,4372
Kontrol positif 70ppm-2	0,4315
Kontrol positif 70ppm-3	0,4289
Kontrol negatif-1	1,3784
Kontrol negatif-2	1,3803
Kontrol negatif-3	1,3865

BIOGRAFI PENULIS



Nama Jihan Aulya, lahir di Barru, 31 Maret 2001. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara, dari pasangan bapak Mahyuddin dan Ibu Hetty Guswati. Penulis memulai pendidikan formal di TK mawar satu atap pada tahun (2006-2007). Sekolah Dasar di SD 14 Pinrang pada tahun (2007-2013). Kemudian melanjutkan pendidikan Menengah Pertama di SMPN 1 Pinrang pada tahun (2013-2016) dan SMAN 1 Pinrang pada tahun (2016-2019).

Selanjutnaya, penulis melanjutkan pendidikan tinggi di Politeknik Kesehatan Kementrian Kesehatan Makassar jenjang pendidikan Diploma IV Farmasi dan menyelesaikan pendidikan pada tahun (2019-2023). Setelah itu, penulis melanjutkan studi penyetaraan S1 Farmasi dikampus Universitas Megarzky Makassar pada tahun 2024 dan menyelesaikan pendidikan ditahun 2026.