



AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK BUAH LIBO (*Ficus septica* Burm. F) SERTA KORELASINYA DENGAN TOTAL FLAVONOID

Nita Trinovitasari^{*1}, Irvan Anwar¹, Yamin¹, Sabarudin¹, Rachma Malina¹, Nurull Hikmah¹, Sitti Raodah Nurul Jannah¹, Saskia Aprilia Paramita¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo, Kota Kendari.
nitatrinovitasari@uho.ac.id

Jl. R. Suprpto, Kel. Mandonga, Kec. Mandonga, Kota Kendari, 93111

Diterima: 03-05-2025 – Disetujui: 31-05-2025

ABSTRAK

Inflamasi merupakan kondisi normal pada tubuh untuk perlindungan dan peningkatan proses penyembuhan jaringan tubuh yang terluka. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi potensi buah libo (*Ficus septica* Burm. F) sebagai sumber antiinflamasi. Aktivitas antiinflamasi, kadar fenolik dan flavonoid total, korelasi kadar fenolik dan flavonoid total terhadap aktivitas antiinflamasi, serta pengelompokan berdasarkan spektrum FTIR dianalisis pada ekstrak metanol dan terpurifikasi dari empat lokasi: Parigi, Kendari Barat, Sampara, dan Katobu. Aktivitas antiinflamasi diuji dengan metode penghambatan denaturasi protein dan stabilitas membran sel darah merah, kadar fenolik total dengan metode Folin-Ciocalteu, dan kadar flavonoid total dengan metode kolorimetri aluminium klorida. Spektrum FTIR digunakan untuk pengelompokan sampel. Hasil uji aktivitas antiinflamasi dengan metode denaturasi protein pada ekstrak metanol dan ekstrak metanol terpurifikasi menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang sangat kuat dengan nilai $IC_{50} < 50$ ppm, dan pada metode stabilisasi membran sel darah merah pada ekstrak metanol dan ekstrak terpurifikasi menunjukkan aktivitas antiinflamasi kuat dengan nilai IC_{50} 50-100 ppm. Kadar fenolik dan kadar flavonoid total dari ekstrak terpurifikasi lebih tinggi dibandingkan ekstrak metanol. Korelasi antara aktivitas antiinflamasi dengan kadar fenolik dan flavonoid total adalah korelasi negatif yang ditunjukkan dari sudut yang terbentuk lebih dari 90° . Berdasarkan spektra FTIR, ekstrak metanol dan ekstrak terpurifikasi dari empat lokasi terbentuk menjadi tiga kelompok. Ekstrak metanol dan ekstrak terpurifikasi buah libo berpotensi sebagai antiinflamasi.

Key words: Antiinflamasi, Buah Libo (*Ficus septica* Burm. F), Kemometrika, PCA, Spektra FTIR

PENDAHULUAN

Inflamasi adalah respon protektif lokal yang disebabkan oleh cedera atau kerusakan jaringan, dengan tujuan untuk menghancurkan, mengurangi, atau menahan agen yang melukai dan jaringan yang terluka. Hal ini menyebabkan berbagai reaksi fisiologis dalam tubuh seperti aktivasi enzim, pelepasan mediator, diapedesis atau pergerakan sel darah putih melalui kapiler ke area peradangan, migrasi sel, kerusakan dan perbaikan jaringan (Damiti dkk., 2021). Umumnya pengobatan inflamasi dapat menggunakan obat dari golongan Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) dan golongan steroid (Nurjanah & Sumiwi, 2020). Penggunaan obat AINS dalam jangka panjang akan memberikan efek berupa gangguan saluran cerna seperti ulser lambung, gangguan fungsi ginjal dan induksi kehamilan. Penggunaan obat steroid dalam jangka panjang akan menurunkan respon imun tubuh terhadap infeksi, osteoporosis, moonface, serta hipertensi. Oleh sebab itu, diperlukan pengobatan dengan efek samping minimal. The World Health Organization (WHO) merekomendasikan pengobatan tradisional yang memiliki beberapa keunggulan dapat memperkecil efek samping yang ditimbulkan dibandingkan dengan penggunaan obat sintetik (Latief dkk., 2021).

Tumbuhan yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat radang atau inflamasi yaitu libo (*Ficus septica* Burm. F) (Rohman dkk., 2013). Manfaat lain dari tumbuhan libo dapat menyembuhkan beberapa jenis penyakit seperti obat bisul, gatal-gatal, luka, diare, disentri, dan obat untuk menurunkan demam. Kandungan kimia pada buah libo adalah fenolik, saponin, flavonoid, alkaloid, dan tanin (Kinho, 2011). Menurut Ramadhani & Sumiwi (2016) dari berbagai hasil penelitian yang dilaporkan, kandungan kimia yang memiliki khasiat sebagai antiinflamasi adalah flavonoid dan fenolik. Menurut Minarti dkk. (2021) senyawa golongan flavonoid dapat menghambat jalur lipooksigenase secara langsung pada inflamasi yang menyebabkan penghambatan biosintesis eicosanoid dan menginaktifkan radikal bebas yang dapat menarik mediator inflamasi. Menurut Anisa dkk. (2019) senyawa fenolik berfungsi menghambat inflamasi dengan mekanisme penangkapan radikal bebas yang akan memicu terjadinya biosintesis arakidonat menjadi mediator inflamasi yaitu prostaglandin dan menghambat enzim siklogense.

Pengujian antiinflamasi dalam penelitian ini 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 aktifitas antiinflamasi dapat menggunakan metode penghambatan denaturasi protein dan stabilisasi membran sel darah merah. Metode denaturasi protein merupakan skrining awal untuk aktivitas antiinflamasi. Denaturasi protein merupakan salah satu penyebab dari inflamasi yang mengakibatkan kerusakan pada struktur sekunder, tersier dan kuaterner dari protein. Kerusakan tersebut disebabkan adanya pemanasan dan zat pendenaturan sehingga fungsi biologis protein menjadi berkurang (Farida dkk., 2018).

Stabilisasi dari membran sel darah merah juga digunakan sebagai metode untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi secara *in-vitro*. Hal ini dikarenakan membran sel darah merah mirip dengan membran lisosom yang dapat mempengaruhi proses inflamasi sehingga stabilitas lisosom penting dalam membatasi respon inflamasi, yaitu dengan cara mencegah pelepasan enzim dari dalam lisosom selama proses inflamasi berlangsung. Dengan demikian, stabilisasi membran sel darah merah yang diinduksi dengan larutan hipotonik dapat digunakan sebagai ukuran untuk mengindikasikan stabilisasi dari membran lisosom (Wiranto dkk., 2016).

Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) merupakan salah satu metode identifikasi yang digunakan untuk menganalisis tanaman dengan kandungan multikomponen sehingga dapat diketahui perbedaan komposisi senyawa pada spesies tanaman. Penetapan metode paling mudah, sederhana, dan cepat seperti FTIR dapat menjadi alternatif yang efisien untuk pengendalian kualitas bahan alam dalam hal identifikasi karakteristik spesies tanaman. Spektroskopi FTIR digunakan untuk mengelompokkan gugus fungsi. Metode ini memiliki beberapa kelebihan, yaitu biaya yang efektif, cepat, mudah, dan persiapan sampel minimal. Selain itu, gugus fungsi yang terabsorpsi dalam radiasi FTIR pada bilangan gelombang dan ikatan vibrasi kimia memiliki karakteristik pada spektrum fingerprint karena pola spektrum FTIR terutama pada daerah fingerprint merupakan pola yang kompleks, penafsirannya memerlukan bantuan metode kemometrik (Puspitasari dkk., 2021).

Metode dan pengujian optimal dalam kemometrik dipilih atau dirancang, dan informasi kimiawi sebanyak mungkin diekstraksi dari data. Data tersebut kemudian disederhanakan untuk membuat instrumen lebih mudah dibaca. Metode kemometrik yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *Principal Component Analysis* (PCA). PCA digunakan untuk tujuan identifikasi atau mengelompokkan pola dari sampel yang berbeda dan mengekstrak informasi kimia sebanyak mungkin dari data. Data tersebut kemudian disederhanakan agar lebih mudah dibaca pada instrumen (Puspitasari dkk., 2021). Berdasarkan hal tersebut peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai aktivitas antiinflamasi dari buah libo (*Ficus septica* Burm. F) serta korelasinya dengan total fenolik dan flavonoid.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fakultas Farmasi, Fakultas Kedokteran, Laboratorium Pengembangan Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Halu Oleo. Kendari Sulawesi Tenggara dan Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah batang pengaduk (Pyrex®), gelas kimia (Pyrex®), gelas ukur (Pyrex®), corong pisah (Pyrex®), pipet tetes, pipet ukur (Pyrex®), cawan porselin, labu takar (Pyrex®), tabung reaksi (Pyrex®), sendok tanduk, rak tabung reaksi, toples kaca, spatula, mikro pipet (Eppendorf®), neraca analitik (PrecisaXB220At®), rotary vaccum evaporator, pH meter (HANNA Instruments®), blender (Philips®), spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometri FTIR.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah libo (*Ficus septica* Burm. F), aquadest, metanol (teknis), metanol pa, *n*-heksan (C₆H₁₄), kertas saring, natrium klorida (NaCl), *Bovine Serum Albumin* (BSA), *Tris Buffer Saline* (TBS), asam asetat glasial (CH₃COOH), natrium diklofenak (C₁₄H₁₀Cl₂NNaO₂), asam galat (C₇H₆O₅), reagen *Folin-Ciocalteu*, natrium karbonat (Na₂CO₂), kuersetin (C₁₅H₁₀O₇), aluminium klorida (AlCl₃), kalium asetat (CH₃CO₂K), dinatrium hidrogen fosfat (Na₂HPO₄), dapar fosfat pH 7,4, isosalin, dan darah pendonor.

Penyiapan sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah buah Libo (*Ficus septica* Burm. F) yang diperoleh dari empat lokasi di Sulawesi Tenggara yakni: Kecamatan Kendari Barat, Kendari; Kecamatan Sampara, Konawe; Kecamatan Katobu, Raha; dan Kecamatan Parigi, Muna. Sampel buah libo terlebih dahulu disortasi basah untuk menghilangkan zat pengotornya. Kemudian dicuci sampel menggunakan air mengalir dan di potong-potong atau di rajang. Setelah itu dikeringkan dibawah sinar matahari langsung yang ditutupi kain hitam selama beberapa hari hingga kering. Sortasi kering kemudian dilakukan untuk memisahkan objek atau sampel yang rusak selama pengeringan. Sampel kering kemudian diserbukkan dengan blender lalu ditimbang berat simplisia, kemudian dimasukkan dalam wadah kaca untuk dilakukan ekstraksi.

Pembuatan ekstrak buah libo

Sebanyak 300 gram serbuk buah Libo kering dari masing-masing lokasi dimaserasi dengan pelarut metanol. Ekstraksi dilakukan dengan cara merendam serbuk libo dari masing-masing lokasi dalam pelarut metanol sebanyak 3 L selama 3 x 24 jam dengan pengadukan setiap 2 jam sekali dan pergantian pelarut setiap 24 jam. Kemudian dilakukan penyaringan dengan kertas saring. Semua maserat dikumpul dan dimasukkan ke dalam *rotary evaporator* pada suhu kurang dari 60°C untuk menguapkan pelarut yang terdapat dalam ekstrak sehingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh dapat dihitung berat rendemennya dengan rumus pada persamaan berikut :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak (akhir)}}{\text{Bobot serbuk simplisia total}} \times 100\%$$

Uji aktivitas antiinflamasi dengan metode denaturasi protein menggunakan *bovine serum albumin* (BSA)

1. **Pembuatan triss buffer saline (TBS)**

Sebanyak 4,35 g NaCl dilarutkan dalam 200 mL aquadest, ditambahkan 0,605 g *tris base* dicukupkan dengan aquadest sampai 400 ml. Selanjutnya pH diatur dengan penambahan asam asetat glasial hingga pH 6,3, kemudian dicukupkan dengan aquadest sampai 500 mL (Farida dkk., 2018b).

2. **Pembuatan 0,2% BSA dalam TBS**

Sebanyak 0,2 g *Bovine Serum Albumin* (BSA) dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan dengan larutan TBS hingga volume 100 mL (Farida dkk., 2018b).

3. **Pembuatan larutan uji**

Sebanyak 25 mg sampel ekstrak dilarutkan dalam pelarut ekstrak metanol p.a di dalam labu ukur 250 ml, kemudian dicukupkan dengan pelarut sampai volume 250 ml, sehingga didapatkan konsentrasi 100 ppm sebagai larutan induk. Larutan dengan konsentrasi 100 ppm dibuat seri konsentrasi, sehingga menjadi larutan uji dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm untuk setiap jenis sampel (Novika dkk., 2021).

4. **Pembuatan kontrol positif**

Sebanyak 25 mg natrium diklofenak kemudian dilarutkan dengan metanol p.a ke dalam labu ukur 250 ml dan dicukupkan dengan metanol sampai 250 mL, sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 100 ppm yang dijadikan sebagai larutan induk. Dari larutan induk 100 ppm ini, selanjutnya dibuat seri konsentrasi larutan kontrol positif menjadi konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60 dan 70 ppm (Novika dkk., 2021).

5. **Pengukuran aktivitas antiinflamasi**

Diambil sebanyak 1 mL dari setiap konsentrasi larutan (larutan uji dan larutan kontrol positif), kemudian ditambahkan larutan 0,2% BSA hingga volume mencapai 5 mL. Dari campuran tersebut akan menghasilkan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60 dan 70 ppm untuk setiap sampel dan larutan konsentrasi natrium diklofenak. Kemudian diinkubasi pada suhu 25° C selama 30 menit kemudian dipanaskan selama 5 menit pada suhu 72°C, lalu didiamkan selama 25 menit pada suhu 23° C. Setelah dingin, larutan divortex dan dilakukan pengukuran absorbansi dengan spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang 600 nm. Uji aktivitas antiinflamasi dilakukan sebanyak tiga kali (triplo) (Novika dkk., 2021).

6. **Perhitungan persentase penghambatan denaturasi protein**

Persentase penghambatan denaturasi protein diukur dengan menggunakan rumus persentase inhibisi. Persentase inhibisi (IC₅₀) ditentukan dengan menggunakan analisis dengan membuat kurva hubungan antara persen hambatan dengan konsentrasi. Nilai % inhibisi dihitung dengan rumus dengan bentuk persamaan:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi uji}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \dots \dots \dots (\text{Persamaan 3.2})$$

Setelah didapatkan nilai persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, konsentrasi sampel dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear. Persamaan regresi linear yang diperoleh dalam bentuk persamaan:

$$y = ax + b \dots \dots \dots (\text{Persamaan 3.3})$$

keterangan :

y= Absorbansi sampel

x = Konsentrasi sampel

Persamaan regresi linear digunakan untuk mencari nilai IC_{50} (*inhibition concentration* 50%) dari masing-masing sampel dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh dari IC_{50} . Senyawa yang menghambat denaturasi protein lebih besar dari 20% dianggap memiliki sifat antiinflamasi dan dapat digunakan sebagai nilai acuan untuk pengembangan obat (Novika dkk., 2021).

Penetapan kadar flavonoid total

1. Pembuatan larutan standar kuersetin

Larutan standar kuersetin 1000 ppm dibuat dengan menimbang 10 mg kuersetin lalu dilarutkan dengan metanol p.a sebanyak 10 mL (Ahmad dkk., 2015).

2. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum kuersetin

Larutan kuersetin 1000 ppm diambil sebanyak 1 mL. Ditambahkan 0,2 mL $AlCl_3$ 10%, dan 0,2% kalium asetat 1 M (Sari & Ayuchecaria, 2017). Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan running larutan kuersetin pada range panjang gelombang maksimum 400-800 nm (Aminah dkk., 2017).

3. Penentuan operating time

Larutan kuersetin 1000 ppm diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan 1 mL $AlCl_3$ 10% dan 8 mL kalium asetat 1 M. larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dengan interval waktu pada menit ke 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 (Sari & Ayuchecaria, 2017).

4. Penentuan kurva baku kuersetin

Larutan baku kuersetin 1000 ppm dibuat seri konsentrasi larutan standar kuersetin 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm, diambil 1 mL ditambahkan 3 mL metanol, 0,2 mL $AlCl_3$, 10%, dan 0,2 mL kalium asetat 1 M, dan dicukupkan dengan akuades sampai 10 mL dan diinkubasi selama *operating time*. Seluruh seri konsentrasi larutan baku dilakukan pengukuran pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Dibuat kurva kalibrasi hubungan antara kuersetin dengan absorbansi (Ahmad dkk., 2015).

5. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak buah libo

Ditimbang 10 mg ekstrak metanol buah libo dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a. Diambil 1 mL ekstrak lalu ditambahkan 0,2 mL $AlCl_3$ 10%, ditambahkan 0,2 mL kalium asetat dan dicukupkan dengan akuades sampai 10 mL, diinkubasi selama waktu *operating time* pada suhu kamar, absorbansinya diukur pada spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Larutan sampel dibuat dalam tiga kali replikasi sehingga kadar flavonoid yang diperoleh sebagai ekuivalen kuersetin (Ahmad dkk., 2015).

Kadar flavonoid total diperoleh dari nilai absorbansi masing-masing sampel kemudian dimasukkan ke dalam persamaan kurva baku kuersetin. Rumus kadar flavonoid total dapat dihitung (Wardhani dkk., 2018):

$$\text{Kadar Total Flavonoid Per Berat Sampel} = \frac{C \times V \times Fp}{m} \dots (\text{Persamaan } 3.7)$$

Keterangan:

C = Konsentrasi flavonoid

V = Volume sampel (L)

Fp = Faktor pengenceran

m = Massa ekstrak (g)

Pengukuran Spektra FTIR

Pengukuran spektra FTIR ekstrak buah libo dilakukan dengan spektrofotometer FTIR pada daerah IR tengah ($4000-650\text{ cm}^{-1}$) dengan jumlah pemindaian 32 dan resolusi 8 cm^{-1} . Semua spektra diukur setelah pengukuran spektra *background*. Hasil pengukuran sampel akan dikurangi secara otomatis dengan spektra *background* oleh perangkat lunak komputer untuk diperoleh spektra sampel yang akan dianalisis. Selain itu, spektra FTIR dicatat sebagai nilai absorbansi pada setiap data untuk kemudahan studi kuantitatif berdasarkan hukum Lambert-Beer (Puspitasari dkk., 2021).

Data spektra FTIR ekstrak buah libo dikonversi ke dalam nilai absorbansi. Hasil aktivitas antiinflamasi dari ekstrak buah libo yang diperoleh, selanjutnya dilakukan analisis dengan bantuan perangkat lunak minitab. Metode *principal component analysis* (PCA) digunakan untuk mengklasifikasikan aktivitas antiinflamasi sampel buah libo, sehingga dapat diketahui senyawa yang berperan dalam meredakan inflamasi (Puspitasari dkk., 2021)

Analisis Data

Semua data yang dimaksud dianalisis untuk menentukan.:

- Aktivitas antiinflamasi, kadar fenolik dan kadar flavonoid dari ekstrak metanol dan ekstrak terpurifikasi buah libo dianalisis dengan menggunakan Software Excel Corporation, untuk menentukan nilai IC_{50} .
- Korelasi antara aktivitas antiinflamasi dengan kadar fenolik dan flavonoid total dari ekstrak buah libo dianalisis dengan menggunakan analisis PCA dengan bantuan software Minitab.
- Pengelompokkan aktivitas ekstrak buah libo berdasarkan spektra FTIR dianalisis dengan menggunakan analisis PCA dengan bantuan software minitab.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyiapan Sampel

Sampel buah libo diperoleh dari empat lokasi di Sulawesi Tenggara yakni: Kecamatan Kendari Barat, Kendari; Kecamatan Sampara, Konawe; Kecamatan Katobu, Raha; dan Kecamatan Parigi, Muna. Sampel buah libo terlebih dahulu disortasi basah untuk menghilangkan zat pengotornya. Kemudian dicuci sampel menggunakan air mengalir dan di potong-potong atau di rajang. Setelah itu dikeringkan dibawah sinar matahari langsung yang ditutupi kain hitam selama beberapa hari hingga kering. Sortasi kering kemudian dilakukan untuk memisahkan objek atau sampel yang rusak selama pengeringan. Sampel kering kemudian dihaluskan dengan blender lalu ditimbang berat simplisia. Berat simplisia kering buah libo yang di peroleh adalah 300 gram.

Pembuatan Ekstrak Buah Libo

Ekstraksi buah libo menggunakan metode maserasi dengan menimbang sebanyak 300 gr simplisia buah libo yang dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol sebanyak 3 liter. Ekstraksi dengan cara maserasi dilakukan karena maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan sebab metode ini sesuai dan baik untuk skala kecil maupun skala industri (Adhayanti dkk., 2019). Pemilihan metanol sebagai pelarut dikarenakan metanol bersifat universal yaitu dapat menarik senyawa-senyawa organik baik bersifat polar maupun non polar serta pelarut metanol mempunyai titik didih yang relatif rendah sehingga mudah dipisahkan dengan cara penguapan. Ekstraksi buah libo kemudian diproses menggunakan *rotary vacum evaporator* untuk memisahkan ekstrak dan pelarut sehingga menghasilkan

ekstrak kental. Ekstrak yang telah kental kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya. Hasil rendemen ekstrak metanol buah libo dapat dilihat pada **Tabel 1** berikut. Berdasarkan **Tabel 1** hasil ekstraksi 300 gram simplisia buah libo diperoleh hasil rendemen tertinggi terdapat pada daerah Katobu dengan nilai rendemen sebesar 14,72%.

Tabel 1. Hasil perhitungan rendemen ekstrak metanol buah libo

Sampel		Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Ekstrak Metanol	Parigi	39,24	13,08
	Kendari Barat	38,47	12,82
	Sampara	41,62	13,87
	Katobu	44,16	14,72

Uji Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Denaturasi Protein Menggunakan *Bovine Serum Albumin* (BSA)

Pengujian aktivitas antiinflamasi pada penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode penghambatan denaturasi protein BSA. Metode penghambatan denaturasi protein dengan menggunakan BSA cukup efektif karena ditandai dengan munculnya respon inflamasi yang diakibatkan oleh denaturasi protein pada sel tubuh (Minarti dkk., 2021). Faktor yang dapat menyebabkan denaturasi protein yaitu senyawa eksternal, seperti asam kuat, basa kuat, garam organik terkonsentrasi, organik pelarut, dan pemanasan (Ratri dkk., 2022). *Bovine Serum Albumin* (BSA) yang merupakan protein diinduksi oleh panas sehingga mengalami denaturasi. BSA dipilih dalam penelitian ini karena merupakan indikator denaturasi protein yang lebih peka dibandingkan dengan indikator albumin yang lainnya (Hidayah & Marlina, 2021).

Denaturasi protein merupakan keadaan rusaknya struktur sekunder, tersier dan kuaterner dari protein akibat adanya pemanasan dan zat pendenaturan sehingga protein kehilangan fungsi biologisnya. Pemanasan dapat meningkatkan energi kinetik sehingga molekul protein akan bergerak lebih cepat dan mengacaukan ikatan hidrogen serta interaksi hidrofobik non polar protein, hal tersebut akan menyebabkan protein terdenaturasi. Proses rusaknya protein akibat pemanasan dianggap seperti antigen atau zat asing yang masuk ke dalam tubuh, sehingga tubuh merespon secara biologis untuk melakukan perlawanan melalui mekanisme inflamasi (peradangan) (Hidayah & Marlina, 2021).

Kemampuan suatu zat untuk menghambat denaturasi protein menunjukkan adanya potensi aktivitas antiinflamasi. Aktivitas antiinflamasi suatu senyawa dapat ditentukan dengan menghitung persen penghambatan protein terdenaturasi (Fatahillah dkk., 2022). Natrium diklofenak digunakan sebagai kontrol positif karena mekanismenya yang serupa dalam mencegah denaturasi protein pada pH patologis 6,2-6,5. Selain itu, natrium diklofenak dapat menghambat enzim siklooksigenase (COX) (Rahmawati dkk., 2020). Daya hambat pada natrium diklofenak ini disebabkan karena kemampuan natrium diklofenak dalam mengikat albumin dan menjadikan protein lebih stabil, sehingga ketika diinduksi oleh suhu tinggi, protein tidak mengalami denaturasi (Ratri dkk., 2022).

Hasil uji aktivitas antiinflamasi pada ekstrak metanol dan ekstrak terpurifikasi buah libo dapat dilihat pada **Tabel 2** berikut. Berdasarkan **Tabel 2** hasil pengukuran aktivitas antiinflamasi menunjukkan nilai

IC₅₀ yang beragam antara kontrol positif natrium diklofenak, ekstrak metanol, dan ekstrak terpurifikasi. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan aktivitas antiinflamasi pada masing masing sampel. Nilai IC₅₀ yang semakin kecil menunjukkan semakin tingginya aktivitas antiinflamasinya (Abidin dkk., 2019). Hasil pengukuran menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang terkuat terdapat pada ekstrak metanol daerah Parigi dengan nilai IC₅₀ yaitu 55,044 µg/mL dan ekstrak terpurifikasi daerah Kendari Barat dengan nilai IC₅₀ yaitu 41,053 µg/mL. Berdasarkan hasil tersebut, ekstrak terpurifikasi buah libo memiliki aktivitas antiinflamasi yang tergolong sangat kuat dan ekstrak metanol buah libo tergolong kuat. Menurut (Minarti dkk., 2021) aktivitas antiinflamasi digolongkan sangat kuat bila nilai IC₅₀ kurang dari 50 µg/mL, digolongkan kuat bila nilai IC₅₀ berada dalam rentang 50-100 µg/mL dan digolongkan tidak aktif bila nilai IC₅₀ lebih besar dari 500 µg/mL.

Tabel 2 Hasil uji aktivitas antiinflamasi metode penghambatan denaturasi protein BSA

Sampel		IC ₅₀ ppm			$\bar{X}$ IC ₅₀ ± SD
		I	II	III	
Ekstrak Metanol	Parigi	57,194	52,407	55,530	55,044±2,431
	Kendari Barat	52,526	52,880	61,165	55,523±4,889
	Sampara	66,815	57,718	57,718	60,750±5,252
	Katobu	60,618	55,859	51,074	55,850±4,772
Ekstrak Terpurifikasi	Parigi	36,314	44,112	44,541	41,655±4,631
	Kendari Barat	41,256	37,675	44,229	41,053±3,282
	Sampara	44,670	46,411	43,878	44,986±1,296
	Katobu	38,392	43,682	44,125	42,066±3,190
Natrium Diklofenak		7,808	7,801	6,960	7,523±0,487

Uji Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Stabilisasi Sel Darah Merah

Pengujian aktivitas antiinflamasi dengan metode stabilisasi membran sel darah merah digunakan karena struktur sel mirip dengan lisosom dimana sel darah merah memiliki membran yang membungkus hemoglobin, saat membran tersebut pecah maka hemoglobin yang ada didalamnya akan keluar, begitu pula dengan membran lisosom. Saat terjadi cedera membran lisosom akan mengeluarkan zat yang ada didalamnya seperti enzim fosfolipase (Anggara dkk., 2021). Membran sel darah merah mirip dengan membran lisosom, stabilisasi membran ini dapat berpengaruh terhadap proses inflamasi. Metode stabilisasi membran sel darah merah merupakan metode yang dapat digunakan untuk mengetahui potensi antiinflamasi suatu sampel (Wasiaturrahmah & Amalia, 2023).

Natrium diklofenak pada penelitian ini digunakan sebagai kontrol positif untuk membandingkan apakah ekstrak metanol dan ekstrak terpurifikasi buah libo memiliki efektivitas sebagai antiinflamasi yang sama dengan kontrol positif atau tidak. Sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah isosalin karena merupakan pelarut yang telah banyak digunakan dalam pengujian dengan metode stabilisasi membran sel darah merah. Kontrol negatif digunakan untuk membandingkan apakah ekstrak dan ekstrak terpurifikasi buah libo memiliki potensi sebagai antiinflamasi atau tidak, karena isosalin tidak memiliki efek antiinflamasi.

Sel darah merah yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari volunteer sehat yang tidak mengonsumsi obat antiinflamasi kurang lebih selama 2 minggu serta telah dilakukan serangkaian pemeriksaan dasar dan pengambilan darah yang dilakukan oleh tenaga medis PMI Sulawesi Tenggara. Nilai absorbansi ekstrak metanol dan ekstrak terpurifikasi buah libo dapat dilihat menggunakan instrumen spektrofotometer Uv-Vis, pada panjang gelombang 560 nm, dimana pada panjang gelombang tersebut nilai absorbansi hemoglobin dapat terukur. Nilai absorbansi larutan uji yang mendekati atau sama dengan kontrol positif atau bahkan nilainya lebih kecil dapat dikatakan memiliki potensi sebagai antiinflamasi yang baik. Nilai absorbansi yang didapatkan digunakan untuk menentukan stabilitas membran sel darah merah yang tidak lisis. Nilai presentase stabilitas membran yang mendekati atau melebihi kontrol positif dapat dikatakan kuat karena memiliki aktivitas antiinflamasi yang sebanding atau lebih dari pada kontrol positif (Burhannuddin & Karta, 2023). Nilai persen stabilisasinya meningkat seiring bertambahnya konsentrasi disebabkan karena kandungan senyawa penstabil membran sel darah merah dalam setiap konsentrasi semakin meningkat. Hasil uji aktivitas antiinflamasi dari ekstrak metanol dan ekstrak terpurifikasi buah libo dapat dilihat pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antiinflamasi metode stabilisasi sel darah merah

Sampel		IC ₅₀ ppm			$\bar{X}$ IC ₅₀ ± SD
		I	II	III	
Ekstrak Metanol	Parigi	85,957	86,767	86,202	86,309±0,416
	Kendari Barat	85,618	86,385	86,323	86,108±0,426
	Sampara	86,019	86,644	86,139	86,267±0,332
	Katobu	85,737	86,512	86,323	86,191±0,404
Ekstrak Terpurifikasi	Parigi	68,482	68,400	67,188	68,024±0,724
	Kendari Barat	67,507	67,789	67,463	67,586±0,177
	Sampara	67,350	68,400	67,350	67,700±0,606
	Katobu	67,603	68,400	67,987	67,997±0,399
Natrium Diklofenak		31,133	32,132	32,347	31,870±0,648

Berdasarkan tabel diatas, hasil pengamatan dan perhitungan yang telah dilakukan pada ekstrak metanol dan ekstrak terpurifikasi buah libo dengan metode stabilisasi membran sel darah merah didapatkan aktivitas antiinflamasi terkuat terdapat pada ekstrak metanol daerah Kendari Barat dengan nilai IC₅₀ sebesar 86,108 µg/mL dan ekstrak terpurifikasi daerah Kendari Barat dengan nilai IC₅₀ sebesar 67,586 µg/mL. Berdasarkan hal tersebut, buah libo memiliki aktivitas antiinflamasi yang tergolong kuat. Menurut (Minarti dkk., 2021) aktivitas antiinflamasi digolongkan sangat kuat bila nilai IC₅₀ kurang dari 50 µg/mL, digolongkan kuat bila nilai IC₅₀ berada dalam rentang 50-100 µg/mL dan digolongkan tidak aktif bila nilai IC₅₀ lebih besar dari 500 µg/mL. Berdasarkan hasil perhitungan IC₅₀ diatas dapat diketahui bahwa ekstrak terpurifikasi memiliki aktivitas antiinflamasi lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak metanol. Hal ini sejalan dengan beberapa penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa purifikasi ekstrak mampu meningkatkan kadar dan aktifitas zat aktif (Purwanto dkk., 2021).

Penetapan Kadar Fenolik Total

Penetapan kadar fenolik total pada ekstrak metanol dan ekstrak terpurifikasi buah libo dilakukan dengan pereaksi Folin-Ciocalteu, karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan Folin-Ciocalteu membentuk larutan yang dapat diukur absorbansinya. Reagen Folin-Ciocalteu mengoksidasi gugus hidroksil dari senyawa golongan fenol membentuk kompleks berwarna biru. Reaksi ini berjalan lambat pada suasana asam (Supriningrum dkk., 2020b). Reaksi antara reagen Folin-Ciocalteu dan senyawa fenolik hanya

dapat terjadi pada suasana basa, sehingga diperlukan penambahan natrium karbonat untuk membuat lingkungannya menjadi basa. Suasana basa ini dapat mendisosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat (Dewantara dkk., 2021).

Larutan standar asam galat dibuat dalam beberapa variasi konsentrasi yang diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 750 nm, kemudian dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat dan absorbansinya. Hasil penentuan operating time didapatkan serapan yang stabil mulai menit ke-40. Kadar fenolik total dapat dilihat pada Tabel berikut.

Tabel 4. Hasil uji kadar fenolik total pada ekstrak metanol dan ekstrak terpurifikasi buah libo

Sampel		Kadar Fenolik ($\mu\text{g/mL}$)			$\bar{X} \pm \text{SD}$	Kadar Total Fenolik (mgEAG/g)
		I	II	III		
Ekstrak Metanol	Parigi	8,6	8,3	9,3	8,733 $\pm$ 0,513	87,33
	Kendari Barat	8,6	8,3	7,3	8,067 $\pm$ 0,681	80,67
	Sampara	9,6	9,3	8,3	9,067 $\pm$ 0,681	90,67
	Katobu	8,6	10,3	9,3	9,400 $\pm$ 0,854	94,00
Ekstrak Terpurifikasi	Parigi	10,6	10,3	10,3	10,400 $\pm$ 0,173	104,00
	Kendari Barat	9,6	9,3	10,3	9,733 $\pm$ 0,513	97,33
	Sampara	10,6	11,3	10,3	10,733 $\pm$ 0,513	107,33
	Katobu	11,6	10,3	11,3	11,067 $\pm$ 0,681	110,67

Berdasarkan **Tabel 4** menunjukkan hasil kadar fenolik total tertinggi terdapat pada ekstrak terpurifikasi daerah Katobu yang mengandung senyawa fenolik sebesar 11,067 $\mu\text{g/mL}$ dengan kadar fenolik total sebesar 110,67 mgEAG/g sampel. Berdasarkan hasil diatas menunjukkan bahwa ekstrak terpurifikasi menghasilkan kadar fenolik lebih tinggi daripada ekstrak metanol. Hal ini dikarenakan purifikasi ekstrak mampu meningkatkan kadar dan aktivitas zat aktif. Dimana tujuan dari purifikasi tersebut adalah meningkatkan kandungan zat aktif sehingga aktivitas akan meningkat (Purwanto dkk., 2021).

Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total pada ekstrak metanol dan ekstrak terpurifikasi buah libo. Pereaksi AlCl_3 digunakan untuk mendeteksi gugus hidroksi dan keto yang bertetangga dan gugus orto-hidroksi. AlCl_3 menyebabkan terjadinya pergeseran spektrum ultraviolet pada flavonoid. Prinsip penetapan kadar flavonoid metode alumunium klorida adalah terjadinya pembentukan kompleks antara alumunium klorida dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonol. Standar yang digunakan adalah kuersetin (D. Y. Sari, Widyasari, dkk., 2021), karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol (Aminah dkk., 2017).

Larutan standar kuersetin dibuat dalam beberapa variasi konsentrasi yang diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 435 nm, kemudian dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi kuersetin dan absorbansinya. Hasil penentuan *operating time* didapatkan serapan yang stabil mulai menit ke-40. Kadar flavonoid total dapat dilihat pada Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Hasil uji kadar flavonoid total pada ekstrak metanol dan ekstrak terpurifikasi buah libo

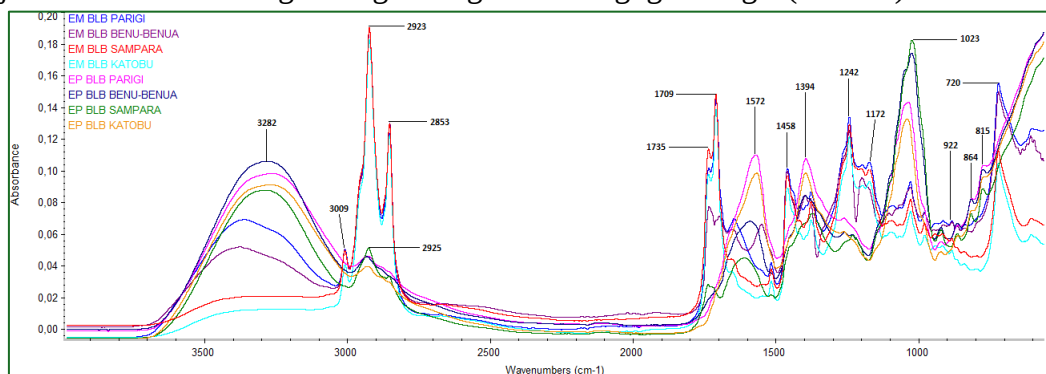
Sampel		Kadar Flavonoid ($\mu\text{g/mL}$)			$\bar{X} \pm \text{SD}$	Kadar Total Flavonoid (mgEK/g)
		I	II	III		
Ekstrak Metanol	Parigi	22,5	23,6	22,9	23,000 $\pm$ 0,557	230,00
	Kendari Barat	22,5	23,1	22,9	22,833 $\pm$ 0,306	228,33
	Sampara	23,0	23,6	22,9	23,167 $\pm$ 0,379	231,67
	Katobu	23,0	23,1	23,9	23,333 $\pm$ 0,493	233,33
Ekstrak Terpurifikasi	Parigi	27,5	28,6	27,9	28,000 $\pm$ 0,557	280,00
	Kendari Barat	27,5	28,1	27,9	27,833 $\pm$ 0,306	278,33
	Sampara	28,0	28,6	27,9	28,167 $\pm$ 0,379	281,67
	Katobu	28,0	28,6	28,4	28,333 $\pm$ 0,306	283,33

Berdasarkan **Tabel 5** menunjukkan hasil kadar flavonoid total. Pada ekstrak terpurifikasi daerah Katobu mengandung senyawa flavonoid yang paling tinggi yaitu sebesar 28,333 $\mu\text{g/mL}$ dengan kadar flavonoid total sebesar 283,33 mgEK/g sampel. Berdasarkan hasil diatas dapat diketahui bahwa ekstrak terpurifikasi memiliki kadar flavonoid lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak metanol. Hal ini sejalan dengan beberapa penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa purifikasi ekstrak mampu meningkatkan kadar dan aktifitas zat aktif. Dimana tujuan dari purifikasi tersebut adalah meningkatkan kandungan zat aktif sehingga aktivitas akan meningkat (Purwanto dkk., 2021).

Pengelompokkan Ekstrak dan Ekstrak Terpurifikasi Buah Libo Berdasarkan Variabel Absorbansi FTIR

Pengelompokan sampel dapat dilakukan menggunakan *score plot*. *Score plot* menjelaskan kemiripan suatu sampel dengan sampel yang lainnya berdasarkan PC1 dan PC2, yang ditandai dengan titik-titik yang saling berdekatan. Semakin dekat kedua titik, menunjukkan semakin mirip pula kedua sampel tersebut. Sebaliknya, semakin jauh jarak kedua titik, menunjukkan semakin tidak mirip kedua sampel tersebut (Widyastuti dkk., 2021).

Data FTIR yang diperoleh dari setiap sampel daun ubi jalar putih berupa bilangan gelombang dan absorbansi. Hasil spektra FTIR sampel buah libo dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil spektra FTIR menunjukkan buah libo mengandung berbagai macam gugus fungsi (Tabel 6).

**Gambar 1.** Spektra buah libo yang dipindai pada bilangan gelombang 4000-650 cm^{-1}

Tabel 6 Panjang gelombang dan gugus fungsi pada ekstrak metanol dan ekstrak terpurifikasi buah libo

No	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Vibrasi	Gugus Fungsi
1	979	C=H tekuk	Alkena
2	1023	C-N ulur	Amina
3	1377	O-H tekuk	Alkohol
4	1572	N-H tekuk	Amina
5	1735	C=O ulur	Ester, Karboksilat
6	2925	C-H ulur	Alkana
7	3282	O-H ulur	Amina

Spektra FTIR selanjutnya dianalisis menggunakan teknik PCA untuk mendapatkan profil sidik ragam FTIR. Menurut Miller & Miller (2010) menjelaskan bahwa PCA adalah teknik *multivariat* untuk mereduksi data yang memiliki korelasi antar variabel. Reduksi data tidak menghilangkan informasi penting yang terkandung di dalamnya.

Hasil analisis dari PCA dalam bentuk *loading plot* dapat menentukan variabel yang paling berkontribusi dalam pembentukan nilai *Principle Components* (PCs). Variabel yang digunakan adalah data absorbansi dari bilangan gelombang tertentu. Absorbansi yang digunakan pada daerah bilangan gelombang 720-3282 cm⁻¹ dari ekstrak metanol dan ekstrak purifikasi buah libo. Kontribusi variabel absorbansi terhadap *loading plot* dapat dilihat dari jarak yang digunakan. Semakin jauh jarak variabel dari titik nol, maka semakin besar kontribusi variabel dalam PC. Berdasarkan hasil analisis, bilangan gelombang 1023 cm⁻¹ memberikan kontribusi yang besar terhadap PC1 dan PC2, seperti terlihat pada **Gambar 2** berikut.

**Gambar 2.** Grafik *loading plot* antara PC1 dan PC2 ekstrak metanol dan ekstrak purifikasi buah libo

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol dan ekstrak terpurifikasi buah libo terbukti mempunyai aktivitas antiinflamasi yang terkuat terdapat pada ekstrak terpurifikasi daerah Kendari Barat dengan nilai IC₅₀ yaitu 41,053 µg/mL. Hasil kombinasi FTIR dan kemometrik Principal Component Analysis (PCA) dapat mengelompokkan ekstrak metanol dan ekstrak

terpurifikasi buah libo menggunakan variabel absorbansi spektra FTIR berdasarkan score plot yaitu ekstrak metanol berada pada kelompok yang sama ditandai dengan titik yang berdekatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z., Putri, U.A., Widiastuti, H., (2019). Potensi Anti-Inflamasi Fraksi Etil Asetat Ranting Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) dengan Uji Penghambatan Denaturasi Protein. *Ad-Dawaa J. Pharm. Sci.* 2. <https://doi.org/10.24252/djps.v2i2.11549>
- Ahmad, A. R., Juwita, J., & Ratulangi, S. A. D. (2015). Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(1), 1–10. <https://doi.org/10.7454/psr.v2i1.3481>
- Aminah, A., Tomayahu, N., & Abidin, Z. (2017). Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) Dengan Metode. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2).
- Anggara, A. F., Wirasti, W., & Waznah, U. (2021). Uji Aktivitas Antiinflamasi Fraksi Metanol dan Fraksi n-Heksan Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica*) dengan Metode Stabilisasi Membran Sel Darah Merah secara Invitro. *Jurnal Famasi Klinis dan Sains Bahan Alam*, 1(1), 16–20. <https://doi.org/10.29408/sinteza.v1i1.3204>
- Anisa, N., Amaliah, N. A., Al Haq, P. M., & Arifin, N. (2019). Efektifitas Anti Inflamasi Daun Mangga (*Mangifera Indica*) Terhadap Luka Bakar Derajat Dua The Effectiveness of Anti Inflation Mangoes Leaves (*Mangifera Indica*) Against Burns Degrees Two. *Jurnal Sainsmat*, 8(1). <http://ojs.unm.ac.id/index.php/sainsmat>.
- Burhannuddin, B., Karta, I.W., (2023). Uji Aktivitas Antiinflamasi Teh Cang Salak Secara *In Vitro* dengan Metode Stabilisasi Membran Human Red Blood Cell. *J. Fitofarmaka Indones.* 10, 39–46. <https://doi.org/10.33096/jffi.v10i2.903>
- Damiti, S. A., Ysrafil, Y., Abidin, Z., Rahmawati, R., Kamba, V., Hartati, H., Ishak, P., & Yusuf, G. Z. S. (2021). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Daun Tembelekan (*Lanтана camara* Linn.) Secara *In Vitro* Menggunakan Metode Stabilitasi Membran Sel Darah Merah. *Journal of Experimental and Clinical Pharmacy (JECP)*, 1(1). <https://doi.org/10.52365/jecp.v1i1.202>
- Dewantara, L. A. R., Ananto, A. D., & Andayani, Y. (2021). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Kacang Panjang (*Vigna unguiculata*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Visible. *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 2(1), 102. <https://doi.org/10.31764/lf.v2i1.3759>
- Farida, Y., Rahmat, D., & Amanda, A. W. (2018b). Anti-Inflammation Activity Test of Nanoparticles Ethanol Extract of Temulawak Rhizome (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) with Protein Denaturation Inhibition Method. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 16(2), 225. <https://doi.org/10.35814/jifi.v16i2.569>
- Hidayah, N., & Marlina, E. (2021). Aktivitas Ekstrak Metanol Daun Keledang (*Artocarpus lanceifolius* Roxb) Sebagai Antiinflamasi. *Prosiding Seminar Nasional Kimia*.
- Latief, M., Fisesa, A. T., Sari, P. M., & Tarigan, I. L. (2021). Anti Inflammatory Activity Of Sungkai Leaves (*Peronema canescens* JACK) Ethanol Extract In Carrageenan Induced Mice. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, 7(2), 144–153. <https://doi.org/10.31603/pharmacy.v7i2.4532>
- Miller, J. N., & Miller, J. C. (2010). *Statistics and Chemometrics For Analytical Chemistry Sixth Edition* (Sixth Edition).
- Minarti, M., Ruga, R., & Marlina, E. (2021). Anti-Inflammatory Activity Of Forest Bitter Melon Leaf (*Momordica balsamina* Linn.) Methanol Extract In Inhibiting Protein Denaturation. *Prosiding Seminar Nasional Kimia*.
- Novika, D. S., Ahsanunnisa, R., & Yani, D. F. (2021). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Penghambatan Denaturasi Protein. *Stannum : Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 3(1), 16–22. <https://doi.org/10.33019/jstk.v3i1.2117>
- Nurjanah, F., & Sumiwi, S. A. (2020). Review Artikel: Aktivitas Antiinflamasi Berbagai Tumbuhan Yang Diinduksi Oleh Karagenan. *Jurnal Farmaka*, 17(1).
- Purwanto, D., Susanti, H., Sugihartini, N., (2021). Pengaruh Purifikasi Terhadap Kandungan Zat Aktif dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 50% Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) 12.

- Puspitasari, L., Mareta, S., & Thalib, A. (2021). Karakterisasi Senyawa Kimia Daun Mint (*Mentha* sp.) dengan Metode FTIR dan Kemometrik. *Sainstech Farma*, 14 (1).
- Ramadhani, N., & Sumiwi, S. A. (2016). Aktivitas Antiinflamasi Berbagai Tanaman Diduga Berasal dari Flavonoid. *Farmaka*, 14(2), 111-123.
- Ratri, L.K., Nugraha, C.D.A., Rahma, N.H., Afifah, D.N., (2022). Potensi Tangkai Terong (*Solanum melongena*) Sebagai Immune Booster. *J. Nutr. Coll.* 11, 105–113.
- Rohman, A. (2013). *Spektroskopi Inframerah Dan Kemotrika Untuk Analisis Farmasi*. Pustaka Pelajar.
- Supriningrum, R., Nurhasnawati, H., & Faisah, S. (2020). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Serunai (*Chromolaena odorata* L.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Al Ulum Jurnal Sains Dan Teknologi*, 5(2), 54. <https://doi.org/10.31602/ajst.v5i2.2802>
- Wasiaturrahmah, Y., Amalia, N., (2023). Potensi Antiinflamasi Ekstrak Daun Kecapi Sentul (*Sandoricum koetjape* Merr) Dengan Metode Stabilisasi Membran Sel Darah Merah. *J. Ilm. Ibnu Sina Jiis Ilmu Farm. Dan Kesehat.* 8, 125–133. <https://doi.org/10.36387/jiis.v8i1.1277>
- Widyastuti, I., Luthfah, H.Z., Hartono, Y.I., Islamadina, R., Can, A.T., Rohman, A., (2021). Antioxidant Activity of Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) And Its Classification With Chemometrics. *Indones. J. Chemom. Pharm. Anal.* 29. <https://doi.org/10.22146/ijcpa.507>
- Wiranto, E., Wibowo, M. A., & Ardiningsih, P. (2016). Aktivitas Antiinflamasi Secara In-Vitro Ekstrak Teripang Butoh Keling (*Holothuria leucospilota* Brandt) Dari Pulau Lemukutan. *Jurnal Kedokteran Klinik*, 5.