

Aktivitas Antiinflamasi Partisi Metanol, n-Heksan, Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) Dengan Metode Stabilisasi Membran sel darah merah

Devi Mafruroh¹, Wirasti², Urmatul Waznah³, Khusna Santika Rahmasari⁴
Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan
devimafruroh72@gmail.com

ABSTRAK

Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang ada di Indonesia. Kandungan kimia yang terdapat di dalam daun ketepeng diantaranya yaitu alkaloid, flavonoid, tannin, dan saponin. Tanaman Ketepeng cina (*Cassia alata* L.) memiliki fungsi menghambat radikal bebas dan dapat digunakan sebagai antiinflamasi. Antiinflamasi merupakan obat yang berfungsi menghambat atau melawan proses peradangan. Tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas stabilisasi membran sel darah merah pada partisi metanol, dan n-heksan dan ekstrak etanol daun ketepeng. Penelitian ini menggunakan metode stabilisasi membran sel darah merah. Skrining fitokimia pada ekstrak dan partisi menunjukan hasil positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, selanjutnya dilakukan uji aktifitas antiinflamasi, dengan menggunakan kontrol positif Na diklofenak. Hasil uji aktivitas antiinflamasi menggunakan metode stabilisasi membran sel darah merah berdasarkan perhitungan % stabilitas menunjukan hasil pada ekstrak etanol, partisi metanol, dan partisi n-Heksan dengan konsentrasi 1000 ppm sebesar 93,56%, 90,29%, 87,60%, sedangkan kontrol positif Na diklofenak konsentrasi 100 ppm 92,59%. Hal ini menunjukan bahwa ekstrak etanol memiliki nilai % stabilitas yang paling baik jika dibandingkan dengan , partisi metanol, dan partisi n-Heksan. Hasil penelitian dianalisis secara statistik menggunakan ANOVA, kemudian dilanjutkan dengan Tukey yang menghasilkan nilai $p < 0,05$ menunjukan bahwa terdapat perbedaan aktifitas antiinflamasi dari sampel ekstrak etanol, partisi metanol, dan partisi n-Heksan. Pada sampel ekstrak etanol dan kontrol positif dengan konsentrasi 800 ppm memiliki aktifitas stabilitas membran tidak berbeda bermakna.

Kata kunci : *Antiinflamasi, Membran sel darah merah, spektrofotometri*

ABSTRACT

Senna alata (*Cassia alata* L.) is a traditional medicinal plant growing in Indonesia. It contains various chemical contents such as alkaloids, flavonoids, tannins, and saponins. Hence it can inhibit free radicals and be used as an anti-inflammatory. Anti-inflammatory drugs are drugs functioning to inhibit or fight the inflammatory process. The purpose of this study was to determine the stabilization activity of red blood cell membranes on the partition of methanol, n-hexane, and ethanol extract of Senna alata. This study employed the red blood cell membrane stabilizing method. Phytochemical screening on the extract and partitions of Senna alata confirmed the existence of flavonoid and alkaloid compounds. The antiinflammatory activity test with a positive control of Na diclofenac and the red blood cell membrane stabilization method based on the calculation of % stability resulted in the ethanol extract, methanol partition, and n-hexane partition with a concentration of 1000 ppm at 93.56%, 90.29%, 87.60%, while the positive control Na diclofenac concentration 100 ppm was 92.59%. This showed that the ethanol extract had the best % stability value compared to methanol partitioning and nhexane partitioning. The results were statistically analyzed with ANOVA and Tukey resulted in a value of $p < 0.05$ indicating that there were differences in the antiinflammatory activity of the ethanol extract, methanol partitioning, and n-hexane partitioning. The sample of ethanol extract with a concentration of 800 ppm and the positive control had no significant difference in membrane stability activity.

Keywords: *Anti-inflammatory, red blood cell membrane, spectrophotometry*

PENDAHULUAN

Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat tradisional masih banyak dilakukan oleh masyarakat Indonesia, selain obat-obatan yang berasal dari bahan kimia. Pemanfaatan tumbuhan di lingkungan daerah terpencil penting untuk memenuhi kebutuhan kesehatan, terutama berlaku untuk obat-obatan tradisional (Dewi et al., 2020). sebagian besar inflamasi diobati dengan menggunakan obat anti-inflamasi baik steroid maupun non-steroid yang dapat menghambat tingkat sitokin inflamasi, tingkat inducible nitric oxide synthase (iNOS), *cyclooxygenase-2*, dan tingkat Prostaglandin E2 (PGE2). Obat-obatan tersebut dapat menyebabkan efek samping yang berbahaya jika digunakan dalam jangka panjang. (Kurnia et al., 2019).

Tanaman yang dapat digunakan sebagai antiinflamasi yaitu ketepeng cina (*Cassia alata* L.) tumbuhan tersebut mempunyai kandungan kimia Kandungan kimia pada tumbuhan Ketepeng cina (*Cassia alata* L.) yaitu alkaloid, tannin, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, dan tanin (Shailla et al., 2019). Kandungan Flavonoid pada ketepeng cina (*Cassia alata* L.) memiliki efek anti inflamasi, antialergi, antibakteri, dan antioksidan, serta efektif terhadap beberapa kelompok jamur dan bakteri. (Rukmana, 2017). Daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) dapat digunakan sebagai anti alergi, antiinflamasi, antioksidan, trombolitik, antikanker, antitumor, antidiabetes, dan anestesi (Fatmawati et al., 2020).

Untuk mengetahui adanya aktivitas antiinflamasi atau tidak dapat dilakukan pengujian melalui metode stabilisasi membran sel darah, metode tersebut digunakan karena sel darah merah mirip dengan membran lisosom yang dapat mempengaruhi proses inflamasi, sehingga jika stabilitas sel darah merah dipertahankan maka stabilitas membran lisosom juga akan terjaga. (Dewi et al., 2020).

metode in vitro digunakan untuk pengujian antiinflamasi menggunakan metode stabilisasi membran sel darah merah, karena metode sel darah merah ini mirip dengan membran lisosom yang dapat mempengaruhi proses inflamasi, sehingga jika stabilitas sel darah merah dipertahankan maka stabilitas membran lisosom juga akan terjaga. Hal ini ditunjukkan melalui stabilisasi sel darah merah yang diinduksi dengan larutan hipotonik agar tidak terjadi lisis sel dan mencegah pelepasan hemoglobin (Hb) (Dewi et al., 2020).

Efektivitas suatu ekstraksi tergantung dari sifat kelarutan senyawa kimianya sesuai dengan prinsip *like dissolve like* yaitu senyawa akan terlarut pada pelarut dengan sifat yang sama. Senyawa metabolit yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar begitupun senyawa kimia yang bersifat semi polar dan non polar yang akan larut pada pelarut yang bersifat semi polar dan non polar. Kandungan kimia yang terdapat pada pelarut non polar dan semi polar perlu diketahui untuk melihat efektifitas efek antiinflamasi (Mariana et al, 2018). maka dari itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian uji aktivitas antiinflamasi daun ketepeng cina dengan berbagai pelarut seperti etanol, metanol dan n-Heksan dimana tujuan dari penelitian ini untuk melihat aktivitas antiinflamasi daun ketepeng cina ekstrak etanol, partisi metanol, dan n-Heksan.

METODE PENELITIAN

Alat

Penggunaan alat dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas (pyrex), blender (sanex), pipet (lokal), inkubator (Memert), batang pengaduk (lokal), rotary evaporator (heidolph), erlenmeyer (pirex), tabung sentrifus (lokal), mikropipet (scilogex), autoklaf (shenan), penangas air (faithful) dan spektrofotometri UV-Vis (shimadzu).

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) yang diperoleh dari Desa Donowangunn, Kecamatan Talun, Kabupaten Pekalongan, Na diklofenak, darah sapi, Na EDTA, etanol 96%, methanol, n-Heksana, Pb asetat, Aquades, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, NaCl, kloroform, asetat anhidrat, asam sulfat pekat, HCl, besi klorida, logam magnesium, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, pereaksi Lieberman Burchad.

Metode

1. Pengolahan sampel

Daun ketepeng cina dikumpulkan disortasi kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di bawah sinar matahari langsung dengan ditutupi kain hitam. Setelah kering daun disortasi kembali kemudian di haluskan dan diayak menggunakan ayakan nomer 40 mesh. Serbuk simplisia di timbang dan di uji kadar airnya.

2. Ekstraksi dan partisi

Ekstraksi daun ketepeng cina menggunakan metode maserasi selama 5 hari menggunakan pelarut etanol, kemudian dilakukan remaserasi selama 3 hari. filtrat hasil maserasi dan remaserasi digabungkan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator, selanjutnya diuapkan kembali menggunakan waterbath untuk menghasilkan ekstrak yang lebih kental. ekstrak kental ditimbang dan diuji kadar airnya, ekstrak yang didapatkan kemudian di partisi dengan cara memasukkan ekstrak, metanol, dan n-Heksan dalam corong pisah kemudian kocok dan diamkan selama 24 jam. Selanjutnya ambil filtrat dan diuapkan, sehingga menghasilkan ekstrak dari partisi n-Heksan, dan metanol. Ditimbang hasil dari ekstrak partisi n-Heksan, metanol.

3. Skrining fitokimia

Uji Alkaloid Uji alkaloid dilakukan dengan cara ekstrak sebanyak 0,5 g dimasukan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 tetes pereaksi dragendroff amati perubahan yang terjadi setelah 30 menit. Ekstrak yang positif mengandung alkaloid akan terbentuk warna jingga (Bandiola, 2018).

a. Uji Tanin

Uji tanin dilakukan dengan cara ekstrak sebanyak 50 mg dilarutkan dalam 5 ml air suling selanjutnya ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 5%. Ekstrak yang positif mengandung tanin akan terbentuk warna hijau tua (Bandiola, 2018).

b. Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan cara memanaskan 1 gr ekstrak dan 5 ml etanol, kemudian tambahkan 10 tetes HCL dan serbuk Mg. Ekstrak yang positif mengandung flavonoid akan terbentuk warna merah coklat (Tarukbua et al, 2018).

c. Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan cara sejumlah ekstrak dimasukan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan air panas secukupnya, kocok sampai terbentuk busa. Ekstrak positif mengandung saponin jika busa stabil selama 30 menit dan tidak hilang saat

ditambahkan 1 tetes HCL 2N (Purwati et al, 2017).

d. Uji terpenoid

Uji terpenoid dilakukan dengan cara ekstrak dilarutkan dalam 0,5 ml kloroform dan 0,5 ml asam asetat. Kemudian tambahkan 2 mL H_2SO_4 pekat dengan cara diteteskan lewat dinding tabung. Ekstrak yang positif mengandung terpenoid akan terbentuk warna coklat kemerahan (Setyowati et al, 2014).

e. Uji steroid

Uji steroid dilakukan dengan cara 40 mg ekstrak ditambahkan dengan 10 tetes kloroform glasial dan 2 tetes asam sulfat, kocok perlahan dan biarkan selama beberapa menit. Ekstrak positif mengandung steroid dengan terbentuknya warna biru atau hijau (Wijaya, 2014).

f. Uji Fenol

Uji fenol dilakukan dengan cara 20 mg ekstrak ditambahkan dengan 10 tetes FeCl_3 . Ekstrak yang positif mengandung fenol akan terbentuk warna hijau, merah, ungu, biru, dan hitam (Wijaya, 2014).

4. Uji aktivitas antiinflamasi

Pembuatan larutan yang dibutuhkan

a. Larutan dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M)

Sebanyak 2,67 gram $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam aquades sampai 100 mL (0,15 M). 2,070 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam aquades sampai 100 mL (0,15 M). Kemudian 81 mL larutan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dicampurkan dengan 19 mL larutan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Cek pH dengan pH meter. Kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. Larutan isosalin

Sebanyak 0,85 gram NaCl dilarutkan dalam dapar fosfat pH 7,4 sampai volume 100 mL. Kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

c. Larutan hiposalin

Sebanyak 0,25 gram NaCl dilarutkan dalam dapar fosfat pH 7,4 sampai volume 100 mL. Kemudian disterilisasi

menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

- d. Larutan ekstrak dan Natrium diklofenak
Sebanyak 25 mg ekstrak etanol, partisi metanol, partisi etil asetat dan partisi n-Heksan dilarutkan dalam isosalin sampai 25 mL (1000 ppm). Natrium diklofenak sebanyak 25 mg dilarutkan dalam 25 mL isosalin (1000 ppm). Kemudian diencerkan menjadi konsentrasi (100 ppm).
- e. Suspensi sel darah merah
Darah disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit pada suhu 27 °C. Supernatan yang terbentuk dipisahkan. Endapan sel-sel darah yang tersisa kemudian dicuci dengan larutan isosalin dan disentrifugasi kembali. Proses tersebut diulang 5 kali sampai isosalin jernih. Selanjutnya dibuat suspensi sel darah merah 10% v/v dengan mencampurkan 2 ml sel darah dan 18 ml larutan isosalin.

Untuk menentukan persen stabilitas membran sel darah merah larutan yang digunakan sebagai berikut :

- a. Larutan uji
Larutan uji terdiri dari 1 mL dapar fosfat, 0,5 mL suspensi sel darah merah, 1 mL larutan sampel, dan 2 mL larutan hiposalin
- b. Larutan kontrol positif
Larutan kontrol positif terdiri dari 1 mL dapar fosfat, 0,5 mL suspensi sel darah merah, 1 mL larutan natrium diklofenak, dan 2 mL larutan hiposalin
- c. Larutan kontrol larutan sampel
Larutan kontrol larutan sampel terdiri dari 1 mL dapar fosfat, 0,5 mL isosalin, 1 mL larutan sampel, dan 2 mL larutan hiposalin
- d. Larutan kontrol negatif
Larutan kontrol negatif terdiri dari 1 mL dapar fosfat, 0,5 mL suspensi sel darah merah, 1 mL isosalin, dan 2 mL larutan hiposalin.

Semua larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 56 °C dan disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 20 menit. Diambil cairan supernatan dan diukur serapannya dengan spektrofotometri UVVis pada panjang gelombang 541 nm. Nilai persen stabilitas membran sel darah merah dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{Stabilitas} = 100 - [A1 - A2 - A3] \times 100\%$$

A1 = Abs larutan sampel

A2 = Abs larutan kontrol larutan sampel

A3 = Abs kontrol negatif

Analisis Data

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental untuk menguji daya antiinflamasi partisi metanol, partisi n-Heksan ekstrak etanol daun ketepeng cina. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis statistik dengan uji ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji Tukey HSD.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun ketepeng cina yang telah dikumpulkan mendapatkan berat awal 8000 gram, setelah melalui proses pengeringan simplisia kering yang didapatkan sebanyak 2000 gram, selanjutnya simplisia diblender untuk mendapatkan serbuk simplisia dan mendapatkan serbuk simplisia sebanyak 1700 gram dengan kadar air sebesar 1%.

Ekstraksi serbuk simplisia menggunakan metode maserasi karena metode ini menguntungkan dimana simplisia akan terendam dalam pelarut yang menyebabkan dinding sel dan membran simplisia akan pecah kemudian senyawa metabolit sekunder akan terlarut dalam pelarut (Lutfiana, 2013).

Maserasi dilakukan selama 5 hari dan diaduk tiap 24 jam. Residu hasil maserasi dilakukan remaserasi untuk menyari senyawa yang tertinggal, remaserasi dilakukan selama 3 hari. Hasil filtrat dari maserasi dan remaserasi digabungkan dan dievaporasi menggunakan rotary evaporator. Ekstrak kental yang didapatkan sebanyak 147,76 gram dengan kadar air 3,5%.

Ekstrak yang didapatkan kemudian dipartisi untuk memisahkan senyawa berdasarkan kelarutannya pada pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Proses partisi dilakukan dengan cara menyari ekstrak pada pelarut non polar, kemudian disari menggunakan pelarut semi polar dan terakhir menggunakan pelarut polar (Faudiyah, 2017).

Pelarut yang digunakan yaitu n-Heksan sebagai pelarut non polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar dan metanol sebagai pelarut polar. Hasil partisi metanol yang didapat sebanyak 22,26 gram, partisi etil asetat sebanyak 5,68 gram dan partisi n-Heksan sebanyak 2,588 gram. Sisa atau ampas hasil penyarian n-Heksan, etil asetat dan metanol sebanyak 9,472 gram, sisa tersebut

merupakan zat yang tidak bisa larut dalam pelarut nHeksan, etil asetat dan metanol, zat tersebut antara lain karbohidrat, lemak dan protein.

Hasil ekstrak etanol, partisi metanol, partisi etil asetat dan partisi n-Heksan selanjutnya dilakukan uji skrining fitokimia untuk melihat senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun ketepeng cina. Uji skrining fitokimia meliputi uji alkaloid, uji flavonoid, uji saponin, uji terpenoid, uji steroid, uji tanin dan uji fenol. Hasil uji skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel I. Hasil Uji Skrining fitokimia

Uji Senyawa	Ekstr ak Etan ol	Partisi Metan ol	Partisi n- Heksa n
Dragendro f	+++	++	++
Alkaloi d	Mayer	+++	++
	Liberman	++	++
	Burchard		
Flavonoid	+++	+++	++
Saponin	+++	++	+
Terpenoid	+++	++	+
Steroid	++	++	++
Tanin	+++	+	+
Fenol	+++	++	+

Keterangan: +++ = sangat kuat ++ = kuat + = kurang kuat

Untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi dapat dilakukan dengan salah satu metode yaitu metode stabilisasi membran sel darah merah. Metode stabilisasi membran sel darah merah digunakan karena struktur sel darah merah mirip dengan lisosom. Sel darah merah memiliki membran yang membungkus hemoglobin, dimana saat membran tersebut pecah maka hemoglobin yang ada didalamnya akan keluar begitupula dengan membran lisosom, saat terjadi cedara membran lisosom akan mengeluarkan zat yang ada didalamnya seperti enzim fosfolipase. Lisosom berperan dalam proses inflamasi dimana enzim yang dikeluarkan lisosom yaitu enzim fosfolipase berperan mengubah fosfolipid menjadi asam arakidonat yang selanjutnya akan menghasilkan prostaglandin, prostaglandin tersebut akan memberikan efek radang melewati vasodilatasi serta peningkatan permeabilitas dinding pembuluh darah dan membran sinovial, selain itu reseptor nyeri disensibilisasi sampai efek dari mediator lain diperkuat (Tjay & Rahardja, 2015) Oleh karena itu, sel darah merah yang stabil terhadap gangguan yang diinduksi

larutan hipotonik dapat digunakan sebagai pengukuran untuk melihat stabilisasi membran lisosom.

Darah merah yang stabil dapat dilihat saat darah merah diberikan larutan hipotonik, dimana akan terjadi stres hipotonik yang bisa mengganggu kestabilan membranya. Stres hipotonik dapat menyebabkan oksidasi lipid dan protein sehingga menyebabkan membran sel rusak dengan ditandai terjadinya hemolisis atau

kerusakan sel darah merah karena gangguan yang menyebabkan terlepasnya hemoglobin (Saputra, A, 2015). Besar kecilnya hemolisis yang timbul pada membran sel darah merah yang diinduksi larutan hipotonik dapat dijadikan sebagai ukuran untuk melihat aktivitas antiinflamasi dari ekstrak daun ketepeng cina.

Darah diambil dengan dimasukan botol dan diletakan di coolbox untuk menjaga kualitas darah, darah yang ada diluar tubuh tidak akan mengalami peremajaan sehingga saat darah diluar tubuh harus diberi perlakuan untuk memperlambat penghancuran. Darah yang ada didalam tubuh akan mengalami penghancuran sel-sel dan peremajaan kemudian diganti dengan sel darah yang baru, agar darah dapat digunakan walaupun berada diluar tubuh darah disimpan pada suhu kurang dari 10°C dan lebih dari 0°C, pada suhu lebih dari 10°C eritrosit akan mengalami kerusakan lebih cepat sedangkan pada suhu 0°C akan terjadi pembekuan air yang dapat merusak membran sel (Suminar, 2011). Setelah pengambilan darah, darah disimpan pada lemari es dengan suhu 3-8°C, Untuk mencegah penggumpalan atau koagulan darah ditambahkan dengan EDTA dimana EDTA dapat mengikat kalsium sehingga tidak terjadi proses pembekuan darah. Perbandingan penggunaan EDTA yaitu 1ml EDTA per 1 ml darah (Tangkery et al, 2013).

Mekanisme stabilisasi membran sel darah merah dapat dilihat saat diberi stress oksidatif dan stress hipotonik. Stress oksidatif dibuat dengan cara larutan yang akan diuji di inkubasi pada suhu 56°C, dimana pada suhu 56°C jumlah radikal bebas atau senyawa pengoksidasi didalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya (Askandari, 2015). Alat yang digunakan untuk mengukur stabilisasi membran sel darah merah yaitu spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 541 nm dimana pada panjang gelombang tersebut hemoglobin dapat terukur, seperti pada penelitian Gunathilake et al (2018) panjang gelombang maksimum hemoglobin yaitu 540 nm.

Aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol, partisi metanol, partisi etil asetat dan partisi n-Heksan daun ketepeng cina dapat dilihat dari adanya penurunan absorbansi, dimana semakin kecil nilai absorbansi maka semakin kecil hemoglobin yang keluar sehingga membran semakin stabil dan aktivitas antiinflamasi semakin besar. Dari nilai absorbansi yang besar maka akan menghasilkan nilai persen stabilitas yang besar pula, berikut nilai persen stabilitas tiap sampel :

Tabel II. Persen stabilitas membran

Konsentrasi	Ekstrak Etanol %	Partisi Metanol %	Partisi n-Heksan %
1000 ppm	93,06	90,29	87,60
800 ppm	91,71	88,97	86,17
400 ppm	90,37	86,72	85,93
200 ppm	88,56	85,57	84,36
100 ppm	87,68	83,35	80,23
Kontrol positif (100 ppm)	92,59	92,59	92,59

Berdasarkan tabel II. Didapatkan hasil rata-rata persen stabilitas ekstrak daun ketepeng cina pada konsentrasi 1000 ppm sebesar 93,06%, konsentrasi 800 ppm sebesar 91,71%, konsentrasi 400 ppm sebesar 90,37%, konsentrasi 200 ppm sebesar 88,56% dan konsentrasi 100 ppm 87,68%. Pada partisi metanol pada konsentrasi 1000 ppm sebesar 90,29%, konsentrasi 800 ppm sebesar 88,97%, konsentrasi 400 ppm sebesar 86,72%, konsentrasi 200 ppm sebesar 85,57%, dan konsentrasi 100 ppm sebesar 83,35%. Pada partisi n-Heksan pada konsentrasi 1000 ppm sebesar 87,60%, 800 ppm sebesar 86,17%, 400 ppm sebesar 85,93%, 200 ppm sebesar 84,36%, dan 100 ppm sebesar 80,29%.

Hasil persen stabilisasi membran sel darah merah selanjutnya dianalisis menggunakan uji one way ANOVA dan uji tukey. Hasil uji one way ANOVA dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel III hasil uji one way ANOVA

Hasil	Nilai signifikan (p)
Ekstrak etanol	0,000
Partisi metanol	0,000
Partisi n-Heksan	0,000

Dari Tabel III hasil uji one way ANOVA persen stabilitas membran sel darah merah menunjukkan pada ekstrak etanol, partisi metanol,

dan partisi n-Heksan menunjukkan bahwa data berbeda secara bermakna dengan nilai signifikan kurang dari 0,05 ($p < 0,05$), dari hasil tersebut dilanjutkan dengan uji tukey untuk melihat letak perbedaan tiap perlakuan. Hasil uji tukey pada ekstrak ketepeng cina konsentrasi 800 ppm dengan kontrol positif konsentrasi 100 ppm dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel VI. Hasil Uji tukey

Kelompok perlakuan	Perbandingan n	Nilai signifikan n (p)	Keterangan n
800 ppm (ekstrak)	Kontrol positif	0,990	Tidak berbeda

Dari Tabel VI. Menunjukkan ekstrak daun ketepeng cina pada konsentrasi 800 ppm sama dengan kontrol positif natrium diklofenak 100 ppm dimana nilai signifikan (p) yang dihasilkan lebih dari 0,05 ($p > 0,05$).

Rata-rata persen stabilitas yang didapat antara ekstrak etanol, partisi metanol, partisi etil asetat dan partisi n-Heksan terdapat perbedaan, dimana perbedaan tersebut disebabkan karena kandungan senyawa kimia di dalamnya. Menurut Pratiwi, Harlia & Wibowo (2017) senyawa kimia yang berperan dalam proses stabilisasi membran sel darah merah yaitu steroid dan tannin, menurut Lutfiana (2013) flavonoid juga berperan dalam proses stabilisasi membran sel darah merah. saponin juga berperan dalam stabilisasi membran sel darah merah (Arifin, 2018).

Dari hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan ditemukan bahwa ekstrak etanol mengandung flavonoid, tannin, steroid, dan saponin. Partisi metanol mengandung flavonoid, tanin, steroid, dan saponin, namun pada partisi metanol saponin yang dihasilkan kurang kuat dibandingkan dengan partisi metanol. Sedangkan partisi n-Heksan mengandung tanin, flavonoid, saponin dan steroid, namun hasil uji flavonoid dan saponin yang didapat kurang kuat dibandingkan ekstrak etanol dan partisi metanol.

Senyawa flavonoid berperan dalam proses stabilisasi membran sel darah merah dimana flavonoid akan melindungi membran eritrosit dari kerusakan akibat induksi larutan hipotonik, senyawa flavonoid bekerja dengan cara berinteraksi dengan larutan hipotonik dan akan menghambat aktivitas perusak membrannya (Saputra.A, 2015). Tanin dan steroid juga berperan dalam proses stabilisasi membran sel

darah dimana steroid merupakan senyawa regulator seluruh sistem homeostatis organisme tubuh agar dapat bertahan menghadapi perubahan lingkungan dan infeksi, sedangkan tanin memiliki kemampuan untuk mengikat kation, sehingga dapat menstabilkan membran eritrosit (Pratiwi, Harlia & Wibowo, 2017). Saponin juga berperan dalam proses stabilisasi membran eritrosit dengan cara mengikat kation (Arifin, 2018).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa daun ketepeng cina memiliki aktivitas antiinflamasi atau menstabilkan membran sel darah merah. Aktivitas stabilisasi membran sel darah merah pada ekstrak etanol yaitu 92,35%, pada partisi metanol yaitu 89,65% , pada partisi n-Heksan yaitu 87,63% masing-masing pada konsentrasi 1000 ppm. Ekstrak etanol memiliki aktivitas anti inflamasi paling tinggi dibandingkan dengan partisi metanol, dan partisi n-Heksan, pada konsentrasi ekstrak etanol 800 ppm tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif Na diklofenak.

DAFTAR PUSTAKA

- Dewi. M Kezia.P P. (2020) "Anti Inflamed Activity Test of Extract, Water Fraction, Ethyl Acetate, and N-Hexan Sendok Leaf (*Plantago Major L.*) to Red Blood Cell Membrane Stability,". pharmacy Department, Faculty of Health Sciences Duta Bangsa Surakarta University Surakarta.
- Fatmawati, S. *et al.* (2020) "Chemical constituents, usage and pharmacological activity of *Cassia alata*," *Heliyon*, 6(7), hal. e04396. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e04396.
- Kurnia, D. *et al.* (2019) "Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Mikroalga Laut *Chlorella Vulgaris* Dengan Metode Stabilitas Sel Darah Merah Manusia Antiinflammatory Activity From Marine Microalgae *Chlorella vulgaris* Extract Used Human Red Blood Cells Stability Method (HRBC)," *Jurnal Kartika Kimia*, 2(November), hal. 57–62.
- Oshadie, G. *et al.* (2017) "Extraction methods, qualitative and quantitative techniques for screening of phytochemicals from plants," *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 5(2), hal. 29–32.
- Rukmana, W. (2017) Formulasi Dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Salep Antifungi Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia Alata L.*). Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Universitas

Islam Negeri Alauddin Makassar.

Shailla Gharnita, Y., Lelyana, S. dan Sugiaman, V. K. (2019) "Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata L.*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*," *SONDE (Sound of Dentistry)*, 4(1), hal. 1–15. doi: 10.28932/sod.v4i1.1766

