

**UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI FRAKSI METANOL DAN FRAKSI  
n-HEKSAN DAUN ASAM JAWA (*TAMARINDUS INDICA*) DENGAN METODE  
STABILISASI MEMBRAN SEL DARAH MERAH SECARA INVITRO**

Aulia Fajjar Anggara, <sup>2</sup>Wirasti, <sup>3</sup>Urmatul Waznah

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan,  
Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan  
Jalan Raya Ambokembang No.8 Kedungwuni Kabupaten Pekalongan  
Email : afajjar91@gmail.com

---

**Abstract**

Tamarind is often used by Javanese people as an anti-inflamamtory. This plant produces organic compounds such as alkaloids, flavonoids, phenolic, tannins and saponins. Anti-inflammatory as a medicine, it works by inhibiting hormones which trigger inflammation. This study aims to find out the anti-inflamamtory activity of methanol and n-hexane fraction on tamarind (*Tamarindus Indica*) on the red blood cell membranes of cow. Since it used and experimental design, the method of HRBC (*Human Red Blood Cell*) was conduced by invitro. The testing data is absorbance in each sample and one way-ANOVA was used for analyzing data. Followed by the Tukey test to see differences between groups. The result states the extract of tamarind leaves : methanol and n-hexane fraction could stabilize red blood cell membranes. Therefore, the consulsion is three elements stated above are effectively used as anti-inflammatory by stabilization of red blood cell membranes method. The last, it recommends to conduct the further study to determine the effect of compound on anti-inflammatory of red blood cell membranes stabilization with other methods.

**Keyword:** *anti-inflammatory, tamarind leaves, HRBC, spektrofotometri*

**Abstrak**

Buah asam jawa digunakan masyarakat sebagai antiinflamasi atau peradangan. Tanaman asam jawa (*Tamarindus Indica*) menghasilkan senyawa-senyawa organik seperti senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin dan saponin. Antiinflamasi merupakan obat yang bekerja dengan cara menghambat hormon pemicu peradangan. Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui aktivitas antiinflamasi fraksi methanol dan n-heksan daun asam jawa (*Tamarindus indica*) pada sampel darah sapi. Metode penelitian ini yaitu eksperimental menggunakan metode HRBC (*Human Red Blood Cell*) secara invitro. Data yang diuji adalah besarnya absorbansi pada masing-masing sampel, analisis data menggunakan ANOVA satu arah. Dilanjutkan dengan uji tukey untuk melihat perbedaan antar kelompok. Hasil dari penelitian ini adalah ekstrak daun asam jawa, fraksi metanol dan fraksi n-heksan dapat menstabilkan membran sel darah merah. Simpulan ekstrak daun asam jawa, fraksi metanol dan fraksi n-heksan efektif untuk antiinflamasi dengan metode stabilisasi membran sel darah merah. Saran perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap senyawa yang berpengaruh pada aktivitas antiinflamasi stabilisasi membran sel darah merah dengan metode yang lain.

**Kata kunci:** *Antiinflamasi, Daun Asam Jawa, HRBC, Spektrofotometri.*

---

## PENDAHULUAN

Asam jawa (*Tamarindus Indica L*) merupakan salah satu tumbuhan jenis tanaman tropis yang tumbuh di Indonesia. Menurut mun'im et al (2009) didalam ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus Indica*) terdapat kandungan senyawa aktif berupa flavonoid, tanin dan saponin. Kandungan-kandungan dalam Daun Asam Jawa tersebut dapat memberikan manfaat terutama bagi kesehatan. Salah satunya adalah obat antiinflamasi.

Inflamasi merupakan reaksi tubuh karena adanya infeksi, iritasi atau zat asing sebagai upaya mekanisme untuk mempertahankan tubuh. Pada reaksi inflamasi akan terjadi pelepasan histamin, bradikinin, prostaglandin, ekstrasvasi cairan, migrasi sel, kerusakan jaringan dan perbaikannya yang ditunjukkan sebagai upaya pertahanan tubuh (Chippada et al., 2011). Secara umum berdasarkan mekanisme kerjanya obat-obat antiinflamasi dibagi menjadi dua golongan yaitu golongan steroid dan golongan non steroid.

Terdapat berbagai metode yang digunakan dalam pengujian obat, kandungan kimia, dan preparasi herbal untuk menunjukkan adanya aktivitas atau potensi antiinflamasi. Membran sel darah manusia atau eritrosit adalah analog dengan membran lisosomal dan stabilitasnya menunjukkan bahwa ekstrak lisosomal penting dalam membatasi respon inflamasi dengan menghambat pelepasan konstituen lisosomal dari neutrofil aktif seperti enzim bakterisida dan protease yang menyebabkan peradangan dan kerusakan jaringan lebih lanjut. Luka pada membran lisosom biasanya memicu pelepasan fosfolipase

A2 yang menjadi perantara hidrolisis fosfolipid untuk menghasilkan mediator inflamasi, oleh karena itu diharapkan senyawa dengan aktivitas stabilisasi membran harus memberikan perlindungan yang signifikan dari membran sel terhadap pelepasan zat merugikan.

Dari keterangan diatas, peneliti tertarik untuk menguji aktivitas antiinflamasi fraksi metanol dan fraksi n-Heksan daun asam jawa (*Tamarindus Indica*) dengan metode stabilisasi membran sel darah merah secara in vitro.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan bahan, blender, *glasswear*, mikro pipet 1000  $\mu$ , autoklaf (*Memert*), oven, *centrifuge*, *vacum rotary evaporator*, *waterbath (lokal)*, dan spektrofotometer UV-Vis (*Shimatsu*).

Bahan ataupun reagen yang digunakan adalah daun asam jawa (*Tamarindus indica*) yang didapat dari Desa Kalilembu Kecamatan Karangdadap Kabupaten Pekalongan, darah sapi, EDTA, etanol 96%, methanol, n-Heksan, timbal asetat 10%, etil asetat, Natrium Diklofenak, aqua destilata,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , NaCl, kloroform, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, HCl, besi (III) klorida, logam magnesium, pereaksi dragendorff, pereaksi mayer, pereaksi lieberman-Burchrad.

### Jalannya Penelitian

Darah sapi diambil kemudian dimasukan kedalam botol yang telah ditambahkan dengan EDTA dengan

perbandingan 1:1 kemudian diletakan di *coolbox* untuk menjaga kualitas darah, kemudian dilakukan pengujian menggunakan ekstrak etanol, partisi metanol dan partisi n-Heksan dibuat larutan dengan konsentrasi 1000 ppm, 800 ppm, 400 ppm, 200 ppm dan 100 ppm, natrium diklofenak digunakan sebagai kontrol positif. Selanjutnya semua larutan di inkubasi pada suhu 56°C selama 30 menit, kemudian semua larutan disentrifuge pada kecepatan 5000 rpm selama 20 menit. Diambil cairan supernatan dan diukur absorbansinya pada spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 541 nm.

### **Perlakuan Darah**

Darah diambil kemudian dimasukan kedalam botol dan diletakan di *coolbox* untuk menjaga kualitas darah, darah yang ada diluar tubuh tidak akan mengalami peremajaan sehingga saat darah diluar tubuh harus diberiperlakuan 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, disimpan pada lemari es 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 1 ml EDTA per

1 ml darah (Tangkrey et al, 2013). EDTA tidak mempengaruhi uji aktivitas antiinflamasi karena cara kerja EDTA adalah mengikat kalsium dan menghambat agregasi trombosit dengan cara menghambat pembentukan trombin yang diperlukan untuk mengkonversi fibrinogen menjadi fibrin dalam proses tersebut tidak mempengaruhi sel darah merah (Askandari, 2015).

### **Analisis Data**

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis statistik dengan uji ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji Tukey HSD dengan  $\alpha = 0,05$ , kemaknaan berdasarkan nilai  $p < 0,05$ . Analisis statistik ini akan dilakukan dengan bantuan program komputer.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pengujian aktivitas antiinflamasi menggunakan metode stabilisasi membran sel darah merah secara invitro, dimana penelitian dilakukan diluar tubuh namun dibuat sedemikian rupa menyerupai keadaan didalam tubuh. Metode stabilisasi membran sel darah merah digunakan karena struktur sel mirip dengan lisosom dimana sel darah merah memiliki membran yang membungkus hemoglobin, saat membrane 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. Lisosom berperan dalam proses inflamasi dimana enzim yang dikeluarkan yaitu enzim fosfolipase berperan mengubah fosfolipid menjadi asam akridonat yang selanjutnya akan menghasilkan prostaglandin, prostaglandin tersebut akan memberikan efek radang melewati vasodilatasi serta peningkatan

permeabilitas dinding pembuluh darah dan membran sinovial, reseptor nyeri disensibilisasi sampai efek dari mediator lain diperkuat (Saputra, 2015).

Sel darah merah yang stabil terhadap gangguan yang di induksi larutan hipotonik dapat digunakan sebagai pengukuran untuk melihat stabilisasi membran lisosom. Dimana akan terjadi stres hipotonik yang mengganggu kestabilan membrannya. Stres hipotonik dapat menyebabkan oksidasi lipid dan protein sehingga membran sel rusak ditandai dengan terjadinya hemolisis atau kerusakan sel darah merah karena gangguan yang menyebabkan terlepasnya hemoglobin (Saputra, 2015). Besar kecilnya hemolisis yang timbul pada membran sel darah merah yang diinduksi larutan hipotonik dapat dijadikan ukuran untuk melihat aktivitas antiinflamasi ekstrak daun asam jawa.

Pada penelitian ini menggunakan beberapa larutan uji diantaranya, larutan dapar fosfat pH 7,4, larutan isosalin, larutan hiposalin, dan larutan uji. Larutan dapar fosfat Ph 7,4 dengan cara ditimbang dinatrium hidrogen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) Sebanyak 2,671 gram dilarutkan dalam aquades sampai 100 mL (0,15 M). Kemudian ditimbang sebanyak 2,070 gram natrium dihidrogen fosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) dilarutkan dalam aquades sampai 100 mL (0,15 M). Kemudian 81 mL larutan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0,15 M) dicampurkan dengan 19 mL larutan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0,15 M) pada suhu ruang. Selanjutnya dicek pH dengan pH meter, kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 2 jam digunakan untuk menstabilkan pH dimana pH normal darah adalah 7,4.

Larutan isosalin digunakan karena konsentrasinya sama dengan tubuh, larutan isosalin untuk menggantikan larutan uji atau suspensi sel darah merah, larutan isosalin juga digunakan untuk mencuci darah dan membuat suspensi sel darah merah. Larutan hiposalin yaitu larutan yang konsentrasi airnya lebih besar sehingga semua larutan masuk kedalam sel darah merah dan akan mengakibatkan sel darah merah pecah. Dalam metode ini sel darah merah dibuat suspensi yang bertujuan untuk mengoptimalkan reaksi antigen-antibodi sehingga reaksi yang muncul dapat diamati dengan jelas, sebelum pembuatan suspensi sel darah merah dicuci dengan menggunakan larutan isosalin, pencucian dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan sel darah merah dengan plasma darah yang dapat mengganggu pengujian antiinflamasi.

Aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol, partisi metanol dan partisi n-Heksan daun asam jawa 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 1.1 Persentase stabilitas membrane sel darah merah**

| Konsentrasi               | Ekstrak Etanol (%) | Partisi Metanol (%) | Partisi n-Heksan (%) |
|---------------------------|--------------------|---------------------|----------------------|
| 1000 ppm                  | 90,2               | 89,9                | 86,6                 |
| 800 ppm                   | 89,5               | 85,4                | 85,7                 |
| 400 ppm                   | 88,9               | 84,6                | 84                   |
| 200 ppm                   | 87,2               | 84,1                | 82,1                 |
| 100 ppm                   | 87                 | 83                  | 78,5                 |
| Kontrol positif (100 ppm) |                    | 90,3                |                      |
| Kontrol negatif           |                    | 1,218               |                      |

Dari tabel 1.1 ekstrak daun asam jawa dapat menstabilkan sel darah merah dimana nilai rata-rata persen stabilitas yang dihasilkan mendekati kontrol positif. Hasil yang didapat juga menunjukkan kenaikan persen stabilitas membran sel darah merah pada tiap konsentrasi, dimana pada konsentrasi 1000 ppm hasil yang didapat sebesar 90,2%, konsentrasi 800 ppm sebesar 89,5%, konsentrasi 400 ppm sebesar 88,9%, konsentrasi 200 ppm 87,2% dan konsentrasi 100 ppm 87%.

Hasil dari nilai persen stabilitas membran sel darah merah ekstrak etanol, partisi metanol dan partisi n-Heksan pada masing-masing konsentrasi dilakukan analisis data uji one way ANOVA.

Uji one way ANOVA untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan data persen stabilitas membrane sel darah merah dari masing-masing kelompok uji dimana nilai signifikan kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ) dinyatakan data terdapat perbedaan sedangkan nilai signifikan lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ) dinyatakan data tidak terdapat perbedaan. Hasil dari uji one way ANOVA dapat dilihat pada tabel berikut :

**Tabel 1.2 Hasil uji one way ANOVA**

| Hasil Nilai signifikan |       |
|------------------------|-------|
| Ekstrak etanol         | 0,000 |
| Partisi metanol        | 0,000 |
| Partisi n-Heksan       | 0,000 |

Dari tabel 1.2 hasil uji one way ANOVA persen stabilitas membran sel darah merah menunjukkan pada ekstrak etanol, partisi metanol dan partisi n-Heksan bahwa data berbeda secara bermakna dengan nilai signifikan kurang

dari 0,05 ( $p < 0,05$ ). Dari hasil tersebut dilanjutkan dengan uji tukey untuk melihat perbedaan tiap perlakuan.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil pada penelitian ini disimpulkan :

1. Ekstrak, partisi metanol dan partisi n-heksan mempunyai efek stabilisasi membran.
2. Fraksi metanol memiliki daya stabilisasi membrane 89,9% lebih besar dibandingkan fraksi n-heksan 86,6% dan senyawa yang diperkirakan mempengaruhi stabilisasi membran yaitu, alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan steroid.

## DAFTAR PUSTAKA

- Chippada SC, Sharan SV, Srinivasa RB, Meena V. (2001). *In Vitro Antiinflammatory Activity Of Methanolic Extract Of Centella Asiatica by HRBC Membrane Stabilization*. RASAYAN Journal Chemistry. 4(2) : 457-460
- Gandjar & Rohman. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Hanani, Endang. (2016). *Analisi Fitokimia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran, EGC.
- Handayani, Tuty. (2013). *Khasiat Ampuh Akar Batang Daun: Musnahkan Segala Penyakit*. Sidoarjo: Infra Pustaka.
- Indriani U., Idiawati N., Wibowo M. A (2018). *Uji Aktivitas Antiinflamasi Dan Toksisitas Infus Kunyit (Curcuma Domestica Val), Asam*

- Jawa (*Tamarindus Indica L*)  
Dan Sirih (*Piper Betle L*).  
Fakultas MIPA, Universitas  
Tanjungpura. Pontianak.
- Kusuma FR, zaky 2005. Tumbuhan Liar  
*Berkhasiat Obat*. Jakarta:  
Argomedia Jakarta.
- Lutfiana (2013). *Uji Aktifitas  
Antiinflamasi Ekstrak Daun Kelor  
(Moringa Oleifera Lam).*  
Dengan Metode Stabilisasi  
Membran Sel Darah Merah  
Secara In Vitro. Skripsi. Fakultas  
Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan  
Universitas Islam Negeri Syarif  
Hidayatullah Jakarta.
- Marya, R.K. (2013). *Buku Ajar  
Patofisiologi*. Tangerang Selatan:  
Binarupa Aksara Publisher.
- Pratiwi.R, Harlia, Wibowo M.A. (2017).  
*Aktivitas Antiinflamasi Dari  
Ekstrak Daun Nanas Kering  
(Rhoeo Discolor)*. Fakultas MIPA  
Universitas
- Putri C. R. H (2014). *Potensi  
Pemanfaatan Tamarindus Indica  
Dalam Berbagai Terapi*. Fakultas  
Kedokteran Universitas Wijaya  
Kusuma.Surabaya.
- Rahmadani N., dan Sumiwi S. A (2016)  
*Aktivitas Antiinflamasi Berbagai  
Tanaman Diduga Berasal Dari  
Flavonoid*. Fakultas Farmasi  
Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Saputra, Andis (2015). *Uji Aktivitas  
Antiinflamasi Ekstrak Etanol 96%  
Kulit Batang Kayu Jawa (*  
*Lannea Coromandelica)*. Dengan  
*Metode Stabilisasi Membran Sel*  
*Darah Merah Secara In Vitro*.  
Skripsi. Fakultas Kedokteran Dan  
Ilmu Kesehatan Universitas Islam  
Negeri Syarif Hidayatullah  
Jakarta.
- Sweetman, Sean C (Ed). 2009.  
*Martindale "the complete drug  
reference"*. Edisi ke-36. Great  
Britain: The Pharmaceutical Press.  
Hal: 44-46
- Tiwari, Kumar, Kaur Mandeep, Kaur  
Gurpreet & Kaur Harlem (2011).  
*Phytochemical Screening and  
Extraction: A Review,*  
*Internationale Pharmaceutical  
Sciencia* **1(1)**.
- Tjay, T.H & Rahardja, Kirana (2015).  
*Obat-Obat Penting Edisi Ke 7*.  
Jakarta: PT Gramedia

## **BIBLIOGRAFI**

Gunakan istilah Bibliografi (bukan Pustaka Acuan) jika referensi hanya sebagai sumber bacaan dan tidak dikutip dalam badan teks.

Salah satu panduan lengkap penulisan kutipan dan pustaka acuan yang dapat digunakan adalah panduan yang disediakan Monash University pada <https://guides.lib.monash.edu/citing-referencing/home>

-----

-----

### **Tingkatan Sirahan (*Header*) Sub-judul**

**SIRAHAN TINGKAT 1 (Huruf Kapital semua, tebal, rata kiri)**

**Sirahan Tingkat 2 (Huruf kapital hanya di awal setiap kata, tebal, rata kiri)**

**Sirahan tingkat 3 (Huruf kapital hanya di awal sub-judul, tebal, rata kiri)**

**Sirahan tingkat 4 (Huruf kapital hanya di awal sub-judul, tebal, menjorok ke dalam menyatu dengan alinea, diakhiri tanda titik).**

*Sirahan tingkat 5 (Huruf kapital hanya di awal sub-judul, miring, menjorok ke dalam menyatu dengan alinea, diakhiri tanda titik).*

-----

-----

### **Peringatan**

Kami hargai setiap naskah untuk publikasi di “**KELUWIH: Jurnal Kesehatan dan Kedokteran**”. Penulisan artikel yang tidak sesuai dengan aturan **TEMPLAT** ini, langsung **DITOLAK** atau diminta perbaikan jika kesalahannya *minor*. Mohon untuk melakukan pengecekan sebelum mengirim (*submit*) naskah.