

AKTIVITAS ANTIINFLAMASI DAN TOKSISITAS DARI EKSTRAK DAUN NANAS KERANG (*Rhoeo discolor*)

Ratna Pratiwi^{1*}, Harlia¹, Muhamad Agus Wibowo¹

¹Progam Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi 78124, Pontianak
*email: ratnapratiwi93@gmail.com

ABSTRAK

Nanas kerang (*Rhoeo discolor*) merupakan jenis tanaman hias yang berpotensi sebagai obat. Tanaman ini digunakan oleh masyarakat sebagai bahan pembuatan minuman liang teh yang berperan dalam meredakan panas dalam. Penelitian ini dilakukan untuk melihat efek sitotoksik dan aktivitas antiinflamasi dari daun nanas kerang. Maserasi daun nanas kerang dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol, selanjutnya dipartisi dengan pelarut *n*-heksan dan etil asetat. Berdasarkan hasil uji toksisitas dengan metode BSLT didapatkan nilai LC_{50} ekstrak kasar, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi metanol berturut-turut adalah 425,927 ppm; 978,400 ppm; 728,153 ppm; dan 572,277 ppm. Hasil uji aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan metode HRBC. Pada konsentrasi 100 μ g/mL memiliki nilai %inhibisi berturut-turut, yaitu ekstrak kasar 90,83%; fraksi *n*-heksan 95,61%; fraksi etil asetat 90,03% dan fraksi metanol 93,82%. Kontrol positif yang digunakan adalah aspirin 100 μ g/mL dengan nilai persentase stabilitas membran sel darah merah sebesar 91,60%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun nanas kerang bersifat toksik dan memiliki potensi sebagai antiinflamasi.

Kata Kunci: antiinflamasi, BSLT, fitokimia, *Rhoeo discolor*, toksisitas

PENDAHULUAN

Nanas kerang (*Rhoeo discolor*) merupakan sejenis tanaman hias. Nanas kerang ini biasanya tumbuh subur di tanah yang lembab. Selain sebagai tanaman hias, nanas kerang juga memiliki kegunaan sebagai tanaman obat-obatan. Beberapa penyakit yang dapat diobati diantaranya bronkhitis, batuk, TBC kelenjar (*Lymphatic tuberculosis*), mimisan (*Epistaxis*), dan disentri basiler. Daun nanas kerang (*Rhoeo discolor*) umumnya digunakan masyarakat Kalimantan barat. Sebagai tanaman pembuatan liang teh yang berfungsi sebagai minuman penurun panas dalam.

Menurut Avila, dkk (2003) dalam jurnal *Toxicology in Vitro* menyatakan bahwa ekstrak etanol dari nanas kerang (*Rhoeo discolor*) bersifat antimutagenik dan antigenotoksik sehingga dapat digunakan sebagai penghambat sel kanker. Tanaman nanas kerang merupakan salah satu tanaman yang bersifat toksik dan memiliki beberapa senyawa metabolit sekunder berupa *alkaloid*, *saponin*, *flavonoida*, *tanin*, *polifenol*, dan zat warna (Kirana, 1993). Berdasarkan hasil penelitian yang telah

dilakukan sebelumnya dikatakan bahwa pada tanaman nanas kerang (*Rhoeo discolor*) terdapat senyawa flavanoid yaitu antosianidin (Sitorus, dkk, 2012).

Ekstrak daun nanas kerang (*Rhoeo discolor*) ini dibuat dalam berbagai fraksi yaitu fraksi metanol, etil asetat, dan *n*-heksan. Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui potensi efek sitotoksik dari daun nanas kerang (*Rhoeo discolor*) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan hewan uji larva *Artemia* (*A. salina*.) serta aktifitas antiinflamasi daun nanas kerang (*Rhoeo discolor*) dengan metode HRBC (*Human Red Blood Cell*) (Meyer dkk., 1982; Oyedapo *et al.*, 2010).

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: *rotary evaporator*, lampu 25 watt, spektrofotometer Uv-Vis, oven, sentrifius dan peralatan gelas.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air laut, akuades (H_2O), amonia (NH_3), *A. salina*, asam klorida (HCl),

Asam sulfat (H_2SO_4), besi (III) klorida heksahidrat ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$), dimetilsulfoksida (DMSO), etilasetat ($C_4H_8O_2$), kloroform ($CHCl_3$), metanol (CH_3OH), natrium hidroksida (NaOH), *n*-heksana (C_6H_{14}), reagen Lieberman-Burchard, Mayer, Wagner, sampel daun nanas kerang, serbuk Mg, dektrosa, sodium sitrat, asam sitrat, *water for injection*, dinatrium hidrogen fosfat ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$), natrium dihidrogen fosfat ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$), dan natrium klorida (NaCl).

Prosedur Kerja

Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstraksi sampel daun nanas kerang dilakukan dengan maserasi selama 5x24 jam menggunakan pelarut metanol. Setiap 24 jam dilakukan penyaringan dan dimaserasi kembali dengan memakai metanol yang baru. Maserat yang diperoleh dievaporasi pada suhu 30-40 °C hingga didapatkan ekstrak kental metanol. Ekstrak kental metanol kemudian difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan dan pelarut etil asetat. Setelah masing-masing fraksi didapatkan, selanjutnya dilakukan evaporasi pada suhu 30-40°C.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini merujuk pada Harborne, 1987. Ada pun uji yang dilakukan sebagai berikut:

Uji Alkaloid

Uji Alkaloid dilakukan dengan cara ekstrak kental ± 300 mg ditambahkan 5 mL air suling, kemudian ditambahkan 10 mL $CHCl_3$ -amoniak 0,05 N, dikocok perlahan, dibiarkan terjadi pemisahan. Lapisan $CHCl_3$ diambil, kemudian ditambahkan 0,5 mL H_2SO_4 2 N, dikocok perlahan, dibiarkan terjadi pemisahan. Lapisan asamnya dipipet, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi lain, ditambah satu tetes pereaksi Mayer atau Dragendorff. Hasil positif adanya alkaloid bila terbentuk endapan putih dengan pereaksi Mayer atau warna jingga dengan pereaksi Dragendorff.

Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan cara menambahkan asam klorida pekat dan logam Mg pada fraksi air yang telah diteteskan pada plat tetes. Tes positif bila terjadi warna merah.

Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan mengocok lapisan air dalam tabung reaksi bila terbentuk busa yang tahan selama lebih kurang 15 menit berarti positif untuk uji saponin.

Uji Terpenoid dan Steroid

Uji triterpenoid dan steroid dengan cara fraksi $CHCl_3$ dibiarkan mengering pada plat tetes, setelah kering ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat dimana terbentuk warna merah positif untuk triterpenoid dan warna biru dan hijau positif untuk steroid.

Uji Tanin

Uji tanin dilakukan dengan menambahkan 2-3 tetes $FeCl_3$ kedalam sampel uji. Jika terbentuk warna biru kehitaman atau hijau kehitaman maka sampel uji tersebut positif terdapat senyawa golongan tanin.

Uji Toksisitas dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merujuk pada Meyer dkk. (1982).

Penetasan larva Artemia

Pembiakan udang dilakukan dalam sebuah wadah yang telah dibagi menjadi dua bagian dengan sekat berlubang dimasukkan air laut secukupnya. Salah satu sisi kotak ditutup dengan aluminium foil, kemudian kotak diletakkan di bawah lampu UV selama 48 jam. Larva yang berenang ke daerah terang setelah berumur 48 jam siap digunakan untuk uji toksisitas.

Penyiapan sampel uji

Larutan induk dibuat dengan melarutkan 50mg sampel dengan 2-3 tetes DMSO dan ditambahkan dengan air laut hingga 25mL. Kadar larutan induk adalah 2000 $\mu g/mL$. Sampel yang akan diuji disiapkan pada konsentrasi 1000, 500, 250 dan 100 $\mu g/mL$. Sebagai blanko tanpa larutan uji dibuat dengan cara 10 μL DMSO ditambahkan air laut hingga 2 mL.

Uji Toksisitas Metode BSLT

Sebanyak 10 larva udang dalam 2000 μL air laut dimasukkan kedalam vial uji, kemudian ditambahkan 2000 μL larutan

sampel. Untuk setiap konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan. Sebagai control dilakukan dengan 2000 μ L larutan blanko kemudian ditambahkan air laut hingga 2000 μ L. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan menghitung jumlah larva udang yang masih hidup dan yang sudah mati, kemudian dihitung mortalitasnya seperti persamaan berikut :

$$\% \text{Mortalitas} = \frac{\text{akumulasi mati}}{\text{akumulasi mati} + \text{akumulasi hidup}} \times 100\%$$

Analisis Data

Nilai LC_{50} ditentukan menggunakan analisis probit dengan SPSS.

Uji Antiinflamasi

Uji aktivitas antiinflamasi pada penelitian ini merujuk pada Oyedapo *et al.* (2010).

Preparasi Suspensi Human Red Blood Cell (HRBC) (10% v/v)

Preparasi suspensi HRBC merujuk pada Oyedapo *et al.*, 2010. Sel darah merah yang digunakan berasal dari volunteer yang tidak mengkonsumsi NSAID selama 2 minggu. Sel darah merah yang telah diambil dimasukkan ke dalam tabung EDTA. Supernatan yang diperoleh dipisahkan kemudian residu yang diperoleh dipindahkan kedalam tabung sentrifugasi dan ditambahkan isosalin hingga 8 mL. Sentrifugasi dilakukan pada 3000 rpm selama 15 menit pada suhu 27 °C . Supernatan yang dihasilkan dipisahkan. Kemudian residu yang dihasilkan dicuci dengan isosalin dan disentrifugasi kembali. Proses tersebut dilakukan sebanyak 3 kali sampai larutan isosalin menjadi jernih. Lalu dibuat suspensi sel darah merah 10% v/v dengan mencampurkan sejumlah volume sel darah dan resuspensi menggunakan larutan isosalin.

Uji Aktivitas Antiinflamasi

Uji aktivitas antiinflamasi merujuk pada Shailesh *et.al*, 2010 dengan menggunakan metode HRBC *membrane stabilizing method* dengan berbagai larutan uji diantaranya:

1. Larutan Uji

Larutan uji terdiri dari 2 mL hiposalin; 1 mL buffer natrium posfat 0,15 M (pH 7,4); 1mL sampel uji (konsentrasi 10 ppm; 100 ppm; 500 ppm; dan 1000 ppm dalam

isosalin) dan 0,5 mL (10% v/v) suspensi HRBC dalam isosalin.

2. Larutan Kontrol Uji

Larutan kontrol uji terdiri dari 2 mL hiposalin; 1 mL buffer natrium posfat 0,15 M (pH 7,4); 1mL isosalin dan 0,5 mL (10% v/v) suspensi HRBC dalam isosalin.

3. Larutan Standar Uji

Larutan standar uji terdiri dari 2 mL hiposalin; 1 mL buffer natrium posfat 0,15 M (pH 7,4); 1mL aspirin (100 μ g/mL) dan 0,5 mL (10% v/v) suspensi HRBC dalam isosalin.

Larutan standar uji diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit, kemudian larutan disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 560 nm. Presentase hambatan hemolisis dihitung dengan menggunakan rumus (Leelaprakash and Dass, 2011):

$$\% \text{Inhibisi hemolisis} = 100 \% \times \frac{A1 - A2}{A1}$$

A1 = Absorbansi larutan kontrol uji

A2 = Absorbansi larutan uji/ larutan standar uji

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstraksi daun nanas kerang merupakan tahap awal yang dilakukan dalam penelitian ini. Tujuan dari ekstraksi yaitu untuk mendapatkan ekstrak kental metanol yang selanjutnya akan di fraksinasi dengan beberapa pelarut, diantaranya *n*-heksan dan etil asetat. Daun nanas kerang dicuci bersih untuk menghilangkan pengotor yang melekat pada daun. Selanjutnya daun yang telah dibersihkan dikering anginkan selama 1 hari. Daun yang digunakan adalah daun basah. Oleh karena itu, hanya dilakukan pengeringan selama 1 hari yang bertujuan untuk mengeringkan daun dari air saat mencuci daun tersebut sebelum dilakukan penghalusan pada daun. Daun nanas kerang yang sudah kering dihaluskan menggunakan belender. Tujuan dari penghalusan ini yaitu untuk memperluas permukaan sampel daun agar proses ekstraksi dapat maksimal.

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol 96% selama 5x24 jam, setiap 24 jam dilakukan penyaringan dan dimaserasi kembali dengan memakai metanol yang

baru. Hal ini bertujuan untuk mendapatkan hasil maksimal dalam ekstraksi. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian dievaporasi menggunakan *vacum rotary evaporator* hingga didapat ekstrak kental metanol. Tujuan evaporasi ini adalah untuk memisahkan pelarut agar didapatkan ekstrak kental metanol. Suhu 38 °C digunakan agar sampel tidak mengalami kerusakan oleh pemanasan yang berlangsung selama evaporasi. Selanjutnya ekstrak kental metanol yang didapatkan dipartisi menggunakan pelarut *n*-heksan dan pelarut etil asetat.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun nanas kerang (*Rhoeo discolor*). Hasil uji fitokimia yang didapatkan dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia

Sampel	Alkaloid	Flavonoid	Saponin	Terpenoid / steroid	Tanin
Ekstrak kasar	+	+	-	Steroid	+
Fraksi <i>n</i> -heksan	-	-	-	Steroid	-
Fraksi etil asetat	+	-	-	Steroid	+
Fraksi metanol	+	+	-	-	+

Ket: (-) tidak terdeteksi
(+) terdeteksi

Beberapa senyawa yang diuji yaitu golongan alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid/steroid dan tanin. Identifikasi senyawa alkaloid dilakukan menggunakan uji wagner, meyer atau dragendorff. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kurniati (2013), pada saat ekstrak ditambahkan pereaksi dragendorff maka akan terbentuk endapan orange dan larutan ekstrak menjadi berwarna jingga yang menunjukkan terdapat alkaloid. Dari tabel dapat dilihat bahwa alkaloid terdapat pada ekstrak kasar, fraksi etil asetat dan fraksi metanol. Sedangkan pada fraksi *n*-heksan tidak terdapat alkaloid.

Uji flavonoid positif apabila terbentuk warna merah. Warna merah pada uji flavonoid karena terbentuknya garam flavilium (Achmad, 1986). Senyawa golongan flavonoid pada nanas kerang hanya terdapat pada ekstrak kasar dan fraksi metanol. Sedangkan pada fraksi *n*-

heksan dan fraksi etil asetat tidak terdapat flavonoid.

Terbentuknya busa 1-10 cm yang stabil dan tidak berkurang selama 10 menit menunjukkan adanya saponin. Timbulnya busa menunjukkan adanya glikosida dalam ekstrak yang mempunyai kemampuan dalam membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lain (Harborne, 1987). Hasil fitokimia tidak menunjukkan adanya senyawa golongan saponin pada ekstrak kasar dan semua fraksi.

Uji terpenoid/ steroid sampel uji menghasilkan larutan warna hijau menunjukkan adanya senyawa steroid. Jika yang terbentuk warna merah maka ekstrak atau fraksi tersebut mengandung terpenoid. Pada ekstrak kasar, fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat terdapat senyawa steroid yang ditunjukkan dengan perubahan warna larutan yang menjadi hijau saat ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard. Sedangkan pada fraksi metanol tidak terdapat terpenoid maupun steroid.

Indikator dalam uji tanin adalah terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman pada sampel. Hasil fitokimia menunjukkan bahwa tanin terdapat pada ekstrak kasar, fraksi etil asetat dan fraksi metanol. Akan tetapi pada fraksi *n*-heksan tidak terdapat tanin.

Uji Toksisitas dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Metode BSLT menggunakan artemia sebagai hewan uji. Fase larva artemia yang digunakan adalah fase naupili karena pada fase ini artemia berada pada fase yang paling aktif membelah secara mitosis yang identik dengan sel kanker yang juga membelah secara mitosis.

Sampel uji yang digunakan terdiri dari ekstrak kasar, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi metanol dengan masing-masing memiliki variasi konsentrasi dari 1000, 500, 250, dan 100 ppm. Setelah persiapan larva artemia dan sampel uji selanjutnya dilakukan uji toksisitas.

Uji toksisitas dengan metode BSLT ini dilakukan untuk mengetahui nilai LC₅₀. LC₅₀ adalah konsentrasi ekstrak atau sampel yang dapat menyebabkan kematian sebesar 50% dari hewan uji. Menurut Mayer (1982), suatu ekstrak dapat dikatakan bersifat toksik jika nilai LC₅₀ < 1000 ppm, sedangkan

senyawa murni dikatakan bersifat toksik apabila nilai $LC_{50} < 200$ ppm. Pengukuran nilai LC_{50} dari hasil uji toksisitas daun nanas kerang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran nilai LC_{50} dengan BSLT

Sampel	LC_{50} (ppm)
Ekstrak kasar	425,927
Fraksi <i>n</i> -heksan	978,400
Fraksi etil asetat	728,153
Fraksi metanol	572,277

Ket: LC_{50} = konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian larva artemia

Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak kasar dan semua fraksi bersifat toksik karena nilai $LC_{50} < 1000$ ppm. Dapat dilihat bahwa aktivitas sitotoksik yang paling bagus yaitu pada ekstrak kasar, selanjutnya fraksi metanol, fraksi etil asetat dan yang terakhir fraksi *n*-heksan dengan nilai LC_{50} berturut-turut 425,927 ppm; 572,277 ppm; 728,153 ppm; dan 978,400 ppm.

Berdasarkan penelitian Sukandar *et al.*, (2008), menunjukkan bahwa senyawa steroid bersifat toksik terhadap artemia. Golongan steroid yang toksik yaitu senyawa gamma-sitosterol. Hasil fitokimia sebelumnya diketahui bahwa steroid terdapat pada ekstrak kasar, fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat. Akan tetapi tidak hanya steroid saja yang berpengaruh pada nilai LC_{50} yang didapatkan melainkan golongan senyawa metabolit sekunder lainnya yaitu flavonoid. Senyawa golongan flavonoid yang berperan yaitu antosianin yang berfungsi sebagai penghambat sel *artemia*. Sehingga nilai LC_{50} pada ekstrak kasar menunjukkan efek sitotoksik yang paling bagus yaitu sebesar 425,927 ppm.

Uji Aktivitas Antiinflamasi

Persiapan larutan merupakan langkah awal dalam uji aktivitas anti inflamasi. Larutan yang dibuat diantaranya adalah larutan alsever, larutan buffer natrium posfat pH 7,4, larutan isosalin dan larutan hiposalin. Sedangkan larutan aspirin 100 $\mu\text{g/mL}$ dan sampel uji dengan konsentrasi 10, 100, 500 dan 1000 $\mu\text{g/mL}$ dibuat pada hari akan dilakukannya uji antiinflamasi. Selanjutnya dilakukan preparasi suspensi *Human Red Blood Cell* (HRBC) (10% v/v).

Sel darah manusia dikumpulkan dari volunteer yang tidak mengonsumsi NSAID selama 2 minggu karena beberapa NSAID diketahui memiliki sifat stabilisasi membran yang dapat berkontribusi pada potensi efek antiinflamasi (Kumar *et al.*, 2012). Jika volunteer mengonsumsi NSAID maka akan mempengaruhi hasil uji antiinflamasi, sehingga tidak dapat terlihat bagaimana efek antiinflamasi dari sampel uji dikarenakan adanya kandungan NSAID didalam darah volunteer yang digunakan dalam uji antiinflamasi ini.

Sel darah merah dimasukkan kedalam tabung sentrifius yang berisi larutan alsever untuk mencegah terjadinya pembekuan darah. Kemudian disentrifius dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit pada suhu 27 °C. Supernatan yang dihasilkan dipisahkan dan kemudian residu yang dihasilkan dicuci kembali dengan menggunakan larutan isosalin dan disentrifugasi kembali. Proses sentrifugasi bertujuan untuk memisahkan antara sel darah merah dengan plasma dan leukosit, supernatan yang terbentuk dipisahkan dengan hati-hati agar sel darah merah tidak rusak. Proses pencucian tersebut dilakukan sebanyak 3 kali sampai supernatan jernih. Jernihnya supernatan menunjukkan bahwa sel darah merah telah bebas dari plasma dan leukosit. Selanjutnya setelah supernatan jernih dan telah dipisahkan dengan residu, lalu dibuatlah suspensi sel darah merah 10% v/v dengan mencampurkan residu atau sel darah merah dan resuspensi menggunakan larutan isosalin.

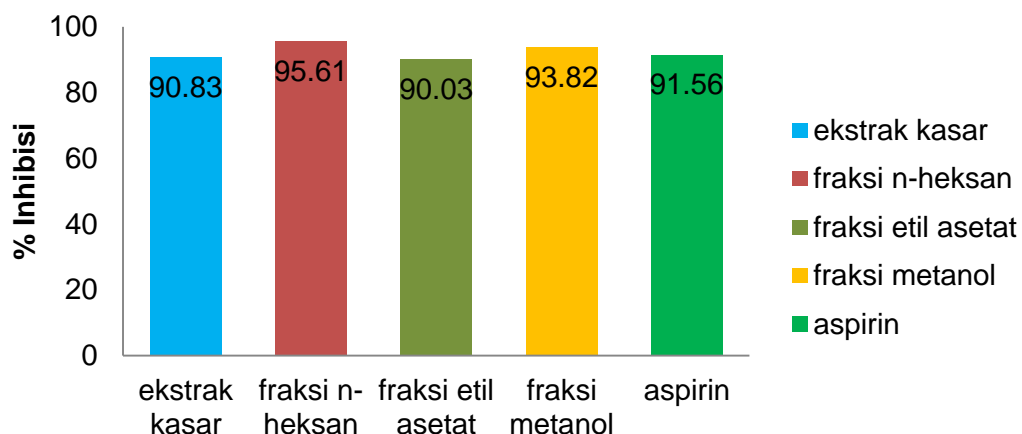
Aspirin digunakan sebagai kontrol positif karena aspirin merupakan obat antiinflamasi yang dapat menginaktivasi enzim siklooksigenase (COX) dalam sintesis prostaglandin yang merupakan suatu mediator inflamasi (Mansjoer, 2003). Hasil penelitian Sakat *et al.*, (2010), menunjukkan bahwa aspirin dengan konsentrasi 100 ppm memberikan stabilitas terhadap membran sel darah merah sebesar 72,56%. Untuk setiap perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan untuk masing-masing ekstrak dan variasi konsentrasi. Setelah semua perlakuan telah dilakukan selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, kemudian disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Setelah itu diukur menggunakan spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang 560 nm.

Persentase stabilisasi atau stabilitas merupakan ukuran untuk melihat kemampuan suatu sampel dalam menstabilkan membran sel darah merah yang didapatkan dari perbandingan serapan antara absorbansi larutan uji dengan absorbansi kontrol negatif (Oyedapo *et al.*, 2010). Metode stabilisasi membran sel darah merah digunakan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi secara *in vitro*. Hal ini dikarenakan membran sel darah merah mirip dengan membran lisosom yang dapat mempengaruhi proses inflamasi (Shenoy *et al.*, 2010). Stabilisasi membran lisosom penting dalam membatasi respon inflamasi dengan cara mencegah pelepasan enzim dalam lisosom selama proses inflamasi dari aktivasi neutrofil seperti enzim protease yang menyebabkan peradangan pada jaringan dan cairan ekstraseluler.

Menurut Hillman *et al.*, (2011), mekanisme stabilisasi membran sel darah merah dapat dilihat ketika diberikan stres hipotonik dan stres oksidatif. Stres oksidatif adalah keadaan dimana jumlah radikal bebas atau senyawa pengoksidasi didalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya (Kumar, 2011). Salah satu penyebab stres oksidatif adalah induksi panas. Sampel yang diinkubasi pada suhu 37°C bertujuan agar sampel menerima stres oksidatif, sehingga sampel dapat menunjukkan adanya efek antiinflamasi yang bekerja dengan penambahan sampel uji pada sampel suspensi HRBC.

Aktivitas antiinflamasi ekstrak dapat dikatakan baik jika nilai absorbansinya mendekati nilai absorbansi kontrol positif. Kontrol positif yang digunakan yaitu aspirin dengan nilai %inhibisi sebesar 91,56%. Aktivitas antiinflamasi tidak dilihat pada nilai absorbansi saja, akan tetapi dilihat juga dari persentase stabilitas ekstrak yang biasa disebut sebagai %inhibisi. Nilai persentase stabilitas ekstrak yang mendekati atau melebihi kontrol positif dapat dikatakan bagus karena memiliki aktivitas antiinflamasi yang sama atau lebih daripada kontrol positif.

Berdasarkan seluruh hasil yang didapatkan dapat dilihat bahwa 100 µg/mL merupakan konsentrasi optimum dan nilai persentase stabilitas membran yang paling tinggi terdapat pada konsentrasi 100 µg/mL pada ekstrak kasar dan semua fraksi. Hasil uji BNT dengan aspirin 100µg/mL dapat dilihat bahwa aspirin 100µg/mL berbeda nyata dengan ekstrak kasar 10 µg/mL, fraksi metanol 1000 µg/mL, fraksi etil asetat 500 dan 1000 µg/mL. Data BNT menunjukkan bahwa aspirin 100 µg/mL, ekstrak kasar 100 µg/mL, fraksi *n*-heksan 100 µg/mL, fraksi etil asetat 100 µg/mL dan fraksi metanol 100 µg/mL tidak berbeda nyata yang berarti bahwa kemampuan ekstrak daun nanas kerang pada ekstrak kasar dan fraksi memiliki kemampuan yang sama dengan aspirin pada konsentrasi 100µg/mL. Berikut diagram stabilitas membran eritrosit sampel dan aspirin pada konsentrasi 100 µg/mL:



Gambar 1. Diagram Stabilitas Membran Eritrosit Sampel dan Aspirin pada Konsentrasi 100 µg/mL

Gambar 1. menunjukkan %inhibisi sampel dan aspirin pada konsentrasi 100 µg/mL. Nilai %inhibisi dari ekstrak kasar, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi metanol dan aspirin 100 µg/mL berturut-turut adalah 90,83%, 95,61%, 90,03%, 93,82% dan 91,56%. Hasil uji BNT untuk ekstrak kasar, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi metanol dan aspirin 100 µg/mL tidak berbedanya. Hal ini menunjukkan bahwa aktifitas antiinflamasi dari ekstrak daun nanas kerang dan aspirin memiliki kemampuan yang sama pada konsentrasi yang sama yaitu 100 µg/mL.

Aktivitas stabilisasi membran dipengaruhi oleh metabolit sekunder seperti tanin, steroid dan flavonoid yang memiliki fungsi sebagai penghambat/ *scavenger* radikal bebas dan menstabilkan membran eritrosit dari induksi larutan hipotonik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa antiinflamasi yang paling baik yaitu pada fraksi *n*-heksan. Pada hasil fitokimia dilihat bahwa pada fraksi *n*-heksan hanya terdapat senyawa steroid. Jadi, diketahui senyawa golongan steroid yang paling berperan pada aktivitas antiinflamasi daun nanas kerang.

Senyawa steroid yang berperan yaitu kortikosteroid yang merupakan senyawa regulator seluruh sistem homeostatis organisme tubuh agar dapat bertahan menghadapi perubahan lingkungan dan infeksi. Selain steroid, flavonoid juga diketahui dapat menstabilkan membran lisosom secara *in vivo* maupun *in vitro*, sedangkan tanin diketahui memiliki kemampuan untuk mengikat kation, sehingga dapat menstabilkan membran eritrosit (Oyedapo *et al.*, 2012).

SIMPULAN

Daun nanas kerang (*Rhoeo discolor*) memiliki sifat toksik dan berpotensi sebagai antiinflamasi. Nilai LC₅₀ yang paling toksik yaitu pada ekstrak kasar metanol sebesar 425,927 ppm. Aktivitas antiinflamasi yang bagus pada konsentrasi 100 ppm untuk ekstrak kasar metanol dan semua fraksi dan yang paling bagus terdapat pada fraksi *n*-heksan sebesar 95,61%.

DAFTAR PUSTAKA

Achmad, S. A., 1986, Buku Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam,

Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Universitas Terbuka, Jakarta.

- Avila, M.G., Alba, M.A., Garza, M., Pretelin, M.C.H., Ortiz, M.A.D., Fasenda, S.F. dan Trivino, S.V., 2003, Antigenotoxic, antimutagenic and ROS scavenging activities of a *Rhoeo discolor* ethanolic crude extract, *PERGAMON, Mexico, Toxicology in Vitro* 17 (2003) 77–83.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia*, Ed ke-2, ITB, Bandung.
- Kirana, I., 1993, *Tanaman Obat Herbal*, Yogyakarta.
- Kurniati, R. I., 2013, Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Daun Buas-buas (*Premna cordifolia* linn.) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, (Skripsi).
- Mansjoer, S., 1999, Mekanisme Kerja Obat Antiradang, *Medic Farmasi: An Indonesia Pharmaceutical Journal*, 7(1): 34-40.
- Meyer, Laughlin dan Ferrigini, 1982, Brine Shrimp: Convenient General Bioassay for Active Constituent, *Planta Medica*, 45: 31–34.
- Middleton, E. JR., Kandaswami, C. dan Theoharides, T.C., 2000, The Effect of Plant Flavonoid on Mammalian Cells: Implications of Inflammation, Heart Disease, and Cancer, *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 52(4): 673-751.
- Oktaviani, E., Wibowo, M. A. dan Idiawati, N., 2015, Penapisan Fraksi Antioksidan Daun Buas-buas (*Premna serratifolia* Linn.), *JKK*. 4(3): 40-47.
- Oyedapo, O. O., Akinpelu, B. A., Akinwunmi, K. F., Adeyinka, M. O. dan Sipeolu, F. O., 2010, *Red Blood Cell Membrane Stabilizing Potentials of Extracts of Lantana Camara and Its Fractions*, *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 2(4): 46-51.
- Sakat, S. S., Juvekar, A. R. dan Gambhire M. N., 2010, *In Vitro Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of Methanol Extract of Oxalis corniculata* Linn., *International*

- Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2(1): 146-155.
- Shailesh, G., Seema, K., and Dwivedi, S., 2011, *In-vitro Anti-inflammatory Activity of Sarcostemma acidum wight. and Arn. Indian herb by Human Red Blood Cell Membrane Stabilization Method*, International Journal of Pharmacy Teaching and Practice, 2(40) : 148-188.
- Shenoy, S., K. Shwetha., K. Prabhu., R. Maradi., KL. Bairy dan T. Shanbhag, 2010, Evaluation of Antiinflammatory Activity of *Tephrosia purpurea* in Rats, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicines*, 3(3), 193-195.
- Sitorus, R.M.H., Wullur, A.C., Yamlean, P.V.Y., 2012, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavanoid Pada Daun Adam Hawa (*Rhoe discolor*), UNSRAT, Manado.
- Sukandar, D.; Hermanto, S.; dan Lestari, E., 2008, Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.