

Original Research Paper

Phytochemical Screening and Evaluation of in Vitro Anti-Inflammatory Activity of Ethanolic Extract of *Terminalia Mantaly* H. perrier Leaves Using BSA Protein Denaturation Assay

Anita Anida Harfan^{1*}, Reni Mulyani¹, Dikdik Mulyadi¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Muhammadiyah Sukabumi, Jawa Barat, Sukabumi, Indonesia;

Article History

Received : September 18th, 2025

Revised : September 28th, 2025

Accepted : October 02th, 2025

*Corresponding Author: **Anita Anida Harfan**, Program Studi Kimia, Universitas Muhammadiyah Sukabumi, Jawa Barat, Sukabumi, Indonesia;
Email: anidaharfan@ummi.ac.id

Abstract: The biological reaction to tissue damage known as inflammation is typified by the production of mediators including cytokines and prostaglandins. Long-term usage of non-steroidal anti-inflammatory medicines (NSAIDs) can have negative effects, despite their widespread use. This study explores the potential of *Terminalia mantaly* H. perrier (ketapang kencana), a plant known to contain various bioactive compounds, as a natural anti-inflammatory agent. The aim of this study was to analyze the phytochemical content and evaluate the anti-inflammatory activity of ethanol extracts of *T. mantaly* leaves using the Bovine Serum Albumin (BSA) protein denaturation method. 70% and 96% ethanol were used in the maceration process for extraction. The 70% ethanol extract included flavonoids, tannins, saponins, triterpenoids, terpenoids, and alkaloids, according to phytochemical screening. With an IC₅₀ value of 27,86 ppm *Terminalia mantaly* ethanol extract 70%, the anti-inflammatory test revealed that the 70% ethanol extract at 400 ppm reduced protein denaturation by 92,29%, which was comparable to the inhibition by sodium diclofenac (84,04% at 50 ppm). These results suggest that polar compounds in the 70% ethanol extract significantly contribute to its anti-inflammatory effect. Therefore, *T. mantaly* leaf extract demonstrates promising potential as a natural phytopharmaceutical candidate for inflammation therapy.

Keywords: Anti-inflammatory, flavonoids, BSA, phytopharmaceutical, terminalia mantaly.

Pendahuluan

Inflamasi atau peradangan adalah respon biologis yang muncul sebagai mekanisme pertahanan tubuh terhadap cedera, infeksi mikroorganisme, atau stimulus berbahaya lainnya. Proses ini melibatkan pelepasan mediator kimia seperti prostaglandin, histamin, sitokin (misalnya TNF- α , IL-1 β), dan leukotrien, yang bertanggung jawab terhadap gejala klinis seperti nyeri, kemerahan, bengkak, dan panas pada area terdampak. Meskipun peradangan akut bermanfaat dalam membantu proses penyembuhan, peradangan kronis justru dapat menimbulkan kerusakan jaringan permanen dan berperan dalam patogenesis berbagai penyakit kronis seperti rheumatoid arthritis,

aterosklerosis, diabetes tipe 2, dan kanker (Chen *et al.*, 2018).

Obat-obatan sintetis seperti kortikosteroid dan obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) sangat penting dalam terapi antiinflamasi modern. NSAID bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase (COX-1 dan COX-2), yang berperan dalam produksi prostaglandin, sementara kortikosteroid menggunakan jalur NF- κ B untuk membatasi ekspresi gen pemicu peradangan. Meskipun efektif, penggunaan obat-obatan ini dalam jangka panjang dapat mengakibatkan sejumlah efek samping berbahaya, termasuk immunosupresi, hepatotoksitas, nefrotoksitas, serta ketidaknyamanan dan perdarahan gastrointestinal (Goyal *et al.*, 2020). Oleh karena

itu, banyak peneliti beralih ke sumber alternatif yang dianggap lebih aman, salah satunya dari bahan alam seperti tanaman obat.

Tanaman obat telah digunakan selama ribuan tahun oleh berbagai kebudayaan tradisional untuk mengobati gejala peradangan. Banyak spesies tumbuhan mengandung metabolit sekunder yang telah terbukti secara ilmiah memiliki aktivitas antiinflamasi, seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, triterpenoid, dan fenol (Mohamed *et al.* 2023). Senyawa-senyawa ini diketahui dapat menstabilkan membran lisosom, menghambat sintesis prostaglandin, dan menghambat enzim seperti COX, LOX, serta menghambat aktivasi jalur NF- κ B dan MAPK (Salih dan Ahmed, 2020). Misalnya, flavonoid seperti quercetin, kaempferol, dan rutin memiliki efek sebagai antioksidan dan antiinflamasi yang dapat menghambat produksi sitokin proinflamasi.

Salah satu genus tumbuhan yang diketahui kaya akan metabolit sekunder tersebut adalah *Terminalia* (Famili: *Combretaceae*). Beberapa spesies dalam genus ini, seperti *Terminalia chebula*, *Terminalia bellirica*, dan *Terminalia catappa*, telah banyak diteliti dan menunjukkan aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, serta hepatoprotektif (Das *et al.* 2021). Aktivitas tersebut umumnya dikaitkan dengan kandungan senyawa aktif seperti asam galat, asam ellagat, flavonoid, tanin, dan triterpenoid (Kim *et al.* 2022). Ekstrak buah *Terminalia chebula*, misalnya, mampu menghambat enzim COX dan LOX serta menurunkan ekspresi TNF- α dalam model hewan peradangan (Tchatat *et al.* 2020).

Salah satu spesies potensial yang masih jarang diteliti adalah *Terminalia mantaly* H. Perrier, atau dikenal secara lokal sebagai Ketapang Kencana. Tumbuhan ini banyak dibudidayakan sebagai tanaman peneduh di perkotaan karena bentuk daunnya yang rindang. Meskipun belum banyak dimanfaatkan secara etnofarmakologis, beberapa studi awal menunjukkan bahwa daun *T. mantaly* mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, steroid, dan alkaloid (Dougnon *et al.* 2023) (Yunusa *et al.* 2024).

Flavonoid yang terdeteksi dalam daun *T. mantaly* antara lain quercetin dan luteolin, yang memiliki kemampuan menghambat mediator inflamasi melalui mekanisme penghambatan

jalur NF- κ B. Dalam upaya mengevaluasi potensi antiinflamasi suatu senyawa secara *in vitro*, salah satu metode yang banyak digunakan adalah uji denaturasi protein BSA (*Bovine Serum Albumin*). Prinsip dari metode ini adalah menilai kemampuan suatu agen dalam mencegah denaturasi termal dari protein BSA. Denaturasi protein dianggap sebagai proses penting dalam peradangan, karena protein yang terdenaturasi dapat menginduksi reaksi imun dan memperparah kerusakan jaringan (Sakat *et al.* 2010). Jika suatu ekstrak dapat menghambat proses denaturasi ini, maka ia diprediksi memiliki aktivitas antiinflamasi yang relevan. Metode ini sederhana, efisien, dan sangat sesuai digunakan sebagai tahap awal skrining senyawa atau ekstrak tanaman.

Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji potensi aktivitas antiinflamasi dari ekstrak etanol daun *Terminalia mantaly* melalui pendekatan uji denaturasi protein BSA secara *in vitro*. Selain itu, dilakukan pula uji fitokimia untuk mengidentifikasi kelompok senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan *T. mantaly* sebagai salah satu kandidat fitofarmaka antiinflamasi yang aman, efektif, dan berbasis pada sumber daya hayati lokal.

Bahan dan Metode

Alat dan bahan

Ekstrak sampel Daun Ketapang Kencana (*Terminalia mantaly* H Perriere), Etanol 70%, Etanol 96%, HCl pekat, Reagen meyer, Reagen wegner, Reagen Dragendoff, Serbuk mg, Aquades, FeCl₃ 1%, Asam Asetat Anhidrat, Asam Sulfat, Kloroform, Larutan BSA (*Bovine Albumin Serum*) 0,2%, TBS (*Triss Buffer Saline*), NaCl. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain rotary evaporator, gelas kimia, vacum dan corong Buchner, waterbath, saringan whactman, pipet ml, spektrofotometri uv-vis.

Preparasi bahan ekstrak

Daun Ketapang Kencana (*Terminalia mantaly* H Perrier) di keringkan selama 3-5 dijadikan simplisia dan disaring dengan saringan 60 mesh.

Ekstraksi maserasi

Simplisia yang sudah disaring di masukan kedalam wadah kedap udara untuk di lakukan perendaman selama 3x24 jam untuk mengkat senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun *Terminalia mantaly* dengan menggunakan pelarut etanol 70% dan etanol 96%. Setelah itu, maserat disaring menggunakan corong Buchner dan vacuum untuk dipisahkan antara ekstrak kasar dan air hasil rendaman, maka di kentalkan dengan rotary evaporator dengan suhu mulai dari 50°C dan 90 rpm sampai pelarutnya menguap dan mengental. Setelah itu bisa kita hitung rendemennya dengan persamaan 1.

$$\% \text{ rendemen ekstrak} = \frac{\text{masa ekstrak (gram)}}{\text{masa simplisia}} \times 100 \% \quad (1)$$

Skrining fitokimia

Skrining fitokimia ini untuk mengetahui metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak *Terminalia mantaly* senyawa tersebut uji alkaloid, saponin, steroid, terpenoid, tannin, dan flavonoid. Seluruh prosedur ini mengacu pada (Wati *et al.*, 2024; (Do *et al.*, 2014; Fitriyani, 2022).

Uji senyawa alkaloid

- Awalnya, 1 mL sampel dicampur dengan tiga tetes reagen Mayer. Terbentuknya endapan putih menunjukkan hasil positif uji alkaloid untuk reagen Mayer.
- Reagen Wagner ditambahkan tiga tetes ke dalam satu mililiter sampel untuk uji reagen kedua. Ketika terbentuk endapan cokelat, uji reagen Wagner positif.
- Reagen Dragendroff ditambahkan tiga tetes ke dalam satu mililiter sampel untuk uji reagen ketiga. Ketika terbentuk endapan oranye, uji reagen Dragendroff positif..

Uji senyawa flavonoid

Sampel sebanyak 1 mL ditambahkan, diikuti dengan dua tetes HCl kuat dan sedikit bubuk magnesium, untuk melakukan uji flavonoid. Terbentuknya larutan berwarna kuning, jingga, dan merah menunjukkan adanya flavonoid.

Uji senyawa tanin

Sampel sebanyak 1 mL ditambahkan 2 mL akuades ke tabung reaksi. Lalu tambahkan 3 tetes FeCl₃ 1%. Adanya tanin ditandai dengan

terbentuknya warna biru atau hijau kehitaman.

Uji senyawa saponin

Sampel sebanyak 1 mL ditambahkan ke dalam 1 mL air panas, dan campuran dikocok hingga berbusa untuk melakukan uji saponin. Setelah itu, 2 tetes HCl ditambahkan. Jika busa terus muncul, uji berhasil.

Uji senyawa steroid atau triterpenoid

Didihkan sampel 1 mL, tambahkan 3 tetes asam asetat anhidrat, lalu biarkan dingin. Selanjutnya, tuangkan perlahan tiga tetes konsentrat asam sulfat melalui dinding tabung reaksi. Sebuah cincin cokelat akan terbentuk di persimpangan keduanya.

Uji aktivitas anti inflamasi denaturasi protein

- Pembuatan Larutan Uji
Larutan uji diambil sebanyak 0,5 ml kemudian ditambahkan larutan BSA 0,2% hingga volume 5 mL sehingga didapatkan varian konsentrasi menjadi 1, 10, dan 100 ppm.
- Pembuatan Larutan Kontrol Positif
Larutan kontrol positif diambil sebanyak 0,5 ml kemudian ditambahkan dengan larutan BSA 0,2% hingga volume 5 ml sehingga didapatkan variasi konsentrasi menjadi 1,3 ppm, 2,5 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm dan 40 ppm.
- Pembuatan larutan TBS (Tris Buffer Saline)
Timbang 1,21 gram tris base dan 8,7 gram NaCl, lalu tambahkan aquades sebanyak 900 ml. Stabilkan pH dengan penambahan asam asetat glasial sampai pH 6,2-6,5. Kemudian tambahkan aquades sampai 1000 ml dalam labu ukur.
- Pembuatan 0,2% BSA (Bovine Serum Albumin)
Timbang 0,2 gram BSA lalu masukkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian ditambahkan dengan larutan TBS hingga volume 100 ml. Aktivitas Antiinflamasi
Setiap larutan diinkubasi pada suhu 25°C selama 30 menit dan dipanaskan selama 5 menit pada suhu $\pm 72^\circ\text{C}$ dengan water bath, kemudian didinginkan selama 25 menit pada suhu ruang dan diukur absorbannya dengan spektrofotometer Uv-visible pada panjang gelombang 660 nm. Uji aktivitas

antiinflamasi dilakukan sebanyak tiga kali (triplo).

- Denaturasi Protein Persentase penghambatan denaturasi protein diukur dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\%Inhibisi = \frac{\text{abs kontrol negatif} - \text{abs larutan uji}}{\text{abs kontrol negatif}} \times 100 \quad (2)$$

Senyawa ini dapat berfungsi sebagai nilai referensi untuk pengembangan obat dan dianggap memiliki kualitas anti-inflamasi jika mereka menekan denaturasi protein lebih dari 20%.

- Persentase nilai IC₅₀ dihitung. Untuk menentukan nilai IC₅₀ ekstrak etanol natrium diklofenak dan daun belimbing, persamaan regresi linier antara konsentrasi (X) dan persentase inhibisi (Y) dibangun.

Hasil dan Pembahasan

Determinasi tumbuhan

Hasil determinasi tumbuhan di Laboratorium Biologi Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Muhammadiyah Sukabumi, bahwa tumbuhan dengan nama daerah ketapang kencana ini memiliki nama ilmiah yaitu *Terminalia mantaly* H. Perrier yang merupakan salah satu spesies dari famili *Combretaceae*. Hasil determinasi tumbuhan.

Ekstraksi sampel

Maserasi, sebuah teknik ekstraksi dingin, digunakan untuk mengekstrak bahan tanaman. Proses ekstraksi yang dikenal sebagai maserasi melibatkan perendaman daun dalam pelarut selama tiga kali (72 jam) dan pengadukan setiap hari. Hal ini dilakukan untuk menarik bahan aktif pelarut ke dalam sampel daun. Karena daun lunak dan mudah mengembang dalam larutan ekstraksi, proses maserasi dipilih. Selain itu, zat aktif yang termolabil yaitu, mudah rusak oleh suhu tinggi juga dapat memperoleh manfaat dari maserasi. Dengan suhu yang tetap rendah, proses difusi senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, dan senyawa fenolik dari bahan tanaman ke dalam pelarut berlangsung secara perlahan namun optimal. Metode maserasi mampu mengekstraksi senyawa bioaktif secara efisien dari daun *Terminalia catappa*, yang merupakan tanaman dari genus yang sama dengan *Terminalia mantaly* (Akmal *et al.*, 2024).

Etanol 70% dan etanol 96% adalah dua jenis pelarut yang digunakan dalam penelitian ini. Tujuan pemilihan pelarut ini adalah untuk mengevaluasi efisiensi ekstraksi berdasarkan polaritas pelarut. Karena kandungan airnya, yang memudahkannya memasuki sel tanaman, etanol 70% merupakan pelarut hidro-etanol yang melarutkan zat polar dan semi-polar seperti tanin dan flavonoid secara lebih efektif. Di sisi lain, etanol 96% umumnya kurang polar, sehingga lebih cocok untuk zat non-polar. Pelarut hidro-etanol (70%) menghasilkan kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi daripada etanol murni, menurut penelitian pada daun *Terminalia mantaly* (Kipre *et al.*, 2022).

Hasil serupa juga ditemukan pada tanaman dari genus *Terminalia* lainnya seperti *Terminalia catappa* dan *Terminalia chebula*, di mana etanol 70% lebih efektif dalam mengekstrak senyawa aktif dibandingkan etanol 96%. Fakta ini diperkuat oleh penelitian yang menyatakan bahwa pelarut hidro-etanol (etanol dicampur air) lebih efektif dalam mengekstraksi total fenolik dibandingkan etanol murni Menurut Sari *et al.*, (2018) juga menunjukkan bahwa penggunaan etanol-air dalam rasio 50:50 memberikan hasil fenolik tertinggi pada ekstrak daun *Terminalia catappa*.

Proses maserasi dilakukan selama 3 hari (72 jam) pada suhu ruang, disertai pengadukan setiap hari untuk meningkatkan efisiensi difusi. Setelah proses maserasi selesai, larutan filtrat disaring dan didiamkan selama beberapa hari agar partikel halus mengendap dan menghasilkan filtrat jernih. Filtrat kemudian diuapkan, penggunaan suhu 50–60°C dan kecepatan 90–150 rpm merupakan kondisi optimal dalam menguapkan pelarut tanpa menurunkan kualitas senyawa aktif (Husna, 2021). *Rotary evaporator* bekerja dengan prinsip penguapan pelarut dalam kondisi tekanan rendah, sehingga pelarut dapat dihilangkan tanpa merusak kandungan senyawa aktif yang sensitif terhadap panas.

Penggunaan suhu rendah ini penting agar komponen-komponen bioaktif tetap stabil dan tidak mengalami degradasi termal. Metode ini umum diterapkan dalam pembuatan ekstrak kental dari bahan alam, termasuk pada ekstraksi dengan pelarut metanol atau etanol 70% (Usman *et al.*, 2022). Setelah pelarut berhasil diuapkan, diperoleh ekstrak kental yang berwarna coklat kehitaman dengan tekstur yang lengket dan

berminyak. Warna dan konsistensi ini menunjukkan bahwa senyawa aktif telah berhasil diekstraksi secara maksimal. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang untuk menghitung rendemennya. Rendemen dihitung berdasarkan perbandingan antara berat ekstrak kering dan berat awal serbuk simplisia.

Tabel 1. Hasil Esktraksi

Sampel <i>Terminalia</i> <i>mantaly</i>	Bubuk Simplisia (gr)	Bobot Ekstrak (gr)	Rendemen (%)
Etanol 70%	500 gr	101 gr	22.2 %
Etanol 96%	500 gr	36 gr	7.2 %

Berdasarkan hasil Tabel 1, rendemen sebesar 22,2% diperoleh dengan mengekstraksi 101 gram simplisia bubuk dari 500 gram simplisia menggunakan pelarut etanol 70%. Sebaliknya, 36 gram ekstrak dengan rendemen 7,2% diperoleh dari jumlah simplisia yang sama ketika menggunakan etanol 96%. Perbedaan rendemen yang signifikan ini menunjukkan bahwa pelarut etanol 70% mengekstraksi zat aktif dari daun *Terminalia mantaly* secara lebih efisien. Perbedaan ini dipengaruhi juga oleh kemampuan pelarut etanol 70% yang lebih baik dalam melarutkan senyawa polar dan semi-polar.

Klaim ini didukung oleh berbagai penelitian terhadap *Terminalia chebula*, yang menemukan bahwa ekstraksi etanol-air menghasilkan rendemen fenolik yang lebih tinggi daripada etanol murni (Tubtimdee dan Phaechemud, 2011). Ketika pelarut hidro-etanol digunakan sebagai pengganti pelarut etanol murni, rendemen dan kandungan fenolik meningkat. Lebih lanjut, dalam penelitian pada tanaman lain, ekstrak dengan kandungan bioaktif yang lebih tinggi diperoleh menggunakan kombinasi pelarut air dan etanol, dibandingkan dengan pelarut etanol 96% (Arisanti, 2025). Rendemen yang tinggi memberikan beberapa implikasi penting. Ekstrak dengan rendemen tinggi umumnya memiliki kandungan metabolit sekunder yang lebih besar serta mencerminkan efisiensi metode ekstraksi dalam menarik senyawa aktif dari bahan alam.

Kedua, semakin tinggi rendemen, semakin besar pula kemungkinan bahwa ekstrak mengandung senyawa aktif dalam konsentrasi yang cukup untuk menunjukkan aktivitas biologis yang signifikan sehingga potensi

farmakologis seperti antiinflamasi, antioksidan, atau antimikroba juga lebih kuat. Ekstrak hidroetanol dari *T. mantaly* memiliki aktivitas antiplasmodial dan antibakteri yang signifikan, yang diduga berasal dari kandungan flavonoid dan fenolik yang tinggi akibat penggunaan pelarut etanol 70%. Menurut chatat *et al* (2020) *Terminalia catappa* dengan rendemen tinggi menunjukkan aktivitas biologis yang kuat, dengan kandungan fenolik mencapai 251 mg GAE/g ekstrak kering dan rendemen hingga 32% dalam kondisi ekstraksi tertentu (Akmal *et al.* 2024).

Skrining Fitokimia

Menemukan metabolit sekunder yang mungkin memiliki manfaat farmakologis termasuk sifat anti-inflamasi, antioksidan, dan antibakteri memerlukan langkah pertama yang penting yang disebut penyaringan fitokimia (Noreen *et al.* 2020). Hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol 70% dan 96% daun *Terminalia mantaly* ditunjukkan dalam Tabel 2. Senyawa yang diuji meliputi flavonoid, tanin, steroid, triterpenoid, terpenoid, saponin, dan alkaloid. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% memberikan respon positif terhadap hampir seluruh golongan senyawa yang diuji, termasuk flavonoid, tanin, triterpenoid, terpenoid, saponin, dan alkaloid.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia

Jenis Senyawa	Hasil Pengamatan		Keterangan
	Etanol 70%	Etanol 96%	
Flavanoid	+	-	Larutan menjadi hijau
Tanin	+	+	Larutan berwarna biru/hijau
			kehitaman
Steroid	-	+	Larutan berwarna hijau
Triterpenoid	+	-	Larutan berwarna hijau
Terpenoid	+	+	Larutan berwarna hijau
Saponin	+	+	Terbentuknya busa
Alkaloid	+	+	Terdapat endapan putih

Di sisi lain, ekstrak etanol 96% hanya memberikan hasil yang baik untuk alkaloid,

tanin, steroid, terpenoid, dan saponin. Hal ini menyiratkan bahwa zat kimia polar dengan sifat antiinflamasi yang kuat, termasuk flavonoid dan triterpenoid, lebih baik diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% yang lebih polar (Yunusa *et al.*, 2024). Flavonoid hanya terdeteksi pada ekstrak 70%, berdasarkan uji Shinoda yang menunjukkan perubahan warna merah/oranye. Mekanisme pengujian ini melibatkan pembentukan kompleks ion Mg^{2+} dengan gugus hidroksil flavonoid. Karena flavonoid memiliki polaritas tinggi, maka lebih larut dalam pelarut polar seperti etanol 70% yang mengandung air (Yunusa *et al.* 2024).

Uji tanin dengan $FeCl_3$ menunjukkan hasil positif pada kedua jenis ekstrak melalui pembentukan warna biru/hijau kehitaman, mengindikasikan adanya kompleks fenolat- Fe^{3+} . Tanin yang sangat polar masih dapat larut sebagian dalam etanol 96% (Yunusa *et al.* 2024). Steroid hanya terdeteksi pada ekstrak 96% melalui uji Liebermann-Burchard yang menghasilkan warna hijau. Senyawa ini bersifat nonpolar dan lebih larut dalam etanol 96% yang minim kandungan air. Sebaliknya, triterpenoid hanya ditemukan pada ekstrak 70% dengan perubahan warna merah, meskipun beberapa turunan triterpenoid bersifat amfipatik dan dapat larut dalam kedua jenis pelarut (Yunusa *et al.* 2024). Studi terdahulu juga menunjukkan isolasi senyawa glikosida triterpenoid aktif seperti arjunglucoside I dari batang *T. mantaly*.

Uji terpenoid positif pada kedua ekstrak, dengan perubahan warna hijau-kecoklatan saat direaksikan dengan H_2SO_4 . Hal ini disebabkan oleh keberadaan gugus isoprenoid yang relatif stabil dalam pelarut dengan polaritas berbeda (Ebele 2021). Begitu pula Menurut Jotham (2924) uji saponin pada kedua ekstrak menghasilkan busa yang stabil, menandakan sifat amfipatik saponin yang memungkinkan kelarutan dalam pelarut polar maupun semi-polar (Ebele 2021) (Yunusa *et al.* 2024).

Uji alkaloid menunjukkan hasil positif pada ekstrak 70% dan 96%, ditandai dengan endapan berbeda pada uji Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Masing-masing reagen memiliki sensitivitas terhadap jenis alkaloid tertentu: Mayer terhadap alkaloid kuarternar (Kokate *et al.* 2010). Dragendorff untuk alkaloid aromatik dan basa lemah (Harborne. 1998) dan Wagner sebagai uji konfirmasi (Yunusa *et al.* 2024)

Secara keseluruhan, ekstrak etanol 70% menunjukkan spektrum senyawa aktif yang lebih luas dibandingkan etanol 96%, khususnya dalam hal senyawa polar seperti flavonoid dan triterpenoid. Temuan ini mendukung bahwa pemilihan pelarut sangat berpengaruh terhadap profil metabolit sekunder, dan etanol 70% dapat menjadi pilihan utama dalam upaya eksplorasi aktivitas biologis daun *T. mantaly*.

Aktivitas Anti Inflamasi

Penelitian ini menggunakan metode denaturasi protein Bovine Serum Albumin (BSA) untuk menilai sifat antiinflamasi ekstrak etanol daun *Terminalia mantaly* secara in vitro. Salah satu proses dasar dalam inflamasi yang menyebabkan produksi autoantigen dan reaksi berlebihan oleh sistem imun adalah denaturasi protein (Kumar *et al.* 2020). BSA dipilih sebagai model protein karena sensitif terhadap kondisi denaturatif dan lebih etis digunakan dibanding hewan coba (Farida *et al.* 2018; Novika dan Yani 2021).

Tabel 3. Aktivitas Anti inflamasi Natrium Diklofenak

Konsentrasi (ppm)	Serapan	% Inhibisi
3.13	0.0546	22.11
6,25	0.0413	41.08
12,5	0.0322	54.06
25	0.0259	63.05
50	0.0112	84.04

Tabel 4. Aktivitas Anti inflamasi Ekstrak Etanaol 70% Terminalia Mantaly

Konsentrasi (ppm)	Ektrask Etanol 70% Terminalia Mantaly			% Inhibisi
	I	II	III	
25	0.0440	0.0443	0.0442	37,08
50	0.0315	0.0315	0.0316	55,06
100	0.0225	0.0223	0.0226	68,04
200	0.0155	0.0154	0.0156	78,03
400	0.0053	0.0056	0.0055	92,29

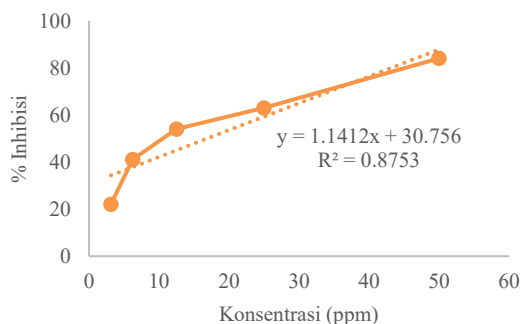
Ekstrak diuji pada pH 6,3 dalam buffer TBS, mensimulasikan kondisi jaringan inflamasi (Rohmah dan Yuanita 2022)]. Denaturasi protein diinduksi melalui pemanasan, dan kemampuan

ekstrak dalam mencegah perubahan struktur protein diukur pada $\lambda = 660$ nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Basuki *et al.* 2018) Penurunan nilai absorbansi mengindikasikan stabilisasi protein oleh senyawa aktif dalam ekstrak, seperti flavonoid dan tanin (Kim *et al.* 2022) (Yunusa *et al.* 2024).

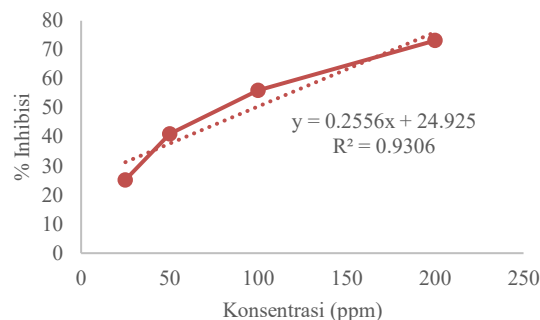
Tabel 5. Aktivitas Anti inflamasi Ekstrak Etanaol 96% Terminalia Mantaly

Konsentrasi (ppm)	Ektrask Etanol 96% Terminalia Mantaly			% Inhibisi
	I	II	III	
25	0.0525	0.0524	0.0525	25,24
50	0.0412	0.0414	0.0415	41,08
100	0.0308	0.0308	0.0308	56,06
200	0.0189	0.0189	0.0188	73,18

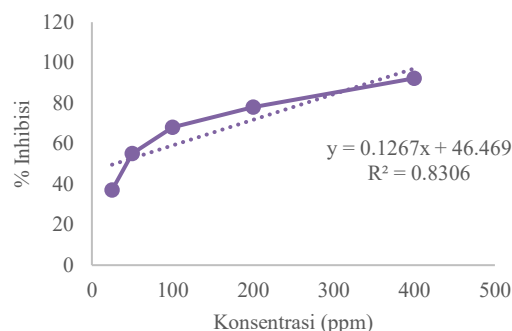
Berdasarkan Tabel 4 dan 5, ekstrak etanol 70% menunjukkan peningkatan persentase inhibisi yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak 96% pada konsentrasi yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa etanol 70% lebih efektif dalam mengekstrak senyawa aktif polar, terutama flavonoid dan tanin, yang diketahui memiliki efek stabilisasi protein melalui ikatan hidrogen dan hidrofobik (Yunusa *et al.* 2024). Sebaliknya, etanol 96% cenderung mengekstrak senyawa nonpolar seperti steroid, namun kurang efisien dalam menarik flavonoid. Perbandingan terhadap natrium diklofenak sebagai kontrol positif memperlihatkan bahwa ekstrak 70% *T. mantaly* memiliki potensi antiinflamasi yang cukup signifikan, meskipun masih sedikit lebih rendah secara kuantitatif. Natrium diklofenak menunjukkan % inhibisi lebih tinggi, sejalan dengan kemampuannya mengikat albumin dan menstabilkan protein melalui penghambatan enzim COX (Ratri *et al.*, 2022; Rusli dan Setiani 2020).



Gambar 1. Regresi Linear Na-Diklofenak



Gambar 2. Regresi Linear Ekstrak etanol 96%



Gambar 3. Regresi Linear Ekstrak Etanol 70%
Regresi linear yang ditampilkan pada

Tabel 6. Aktivitas Anti inflamasi Natrium Diklofenak

Sampel	IC ₅₀
Natrium Diklofenak	16,86 ppm
Ekstrak Etanol 70%	27,86 ppm
Ekstrak Etanol 96%	98,10 ppm

Hasil IC₅₀ (Tabel 6) mendukung temuan tersebut, dengan ekstrak etanol 70% memiliki IC₅₀ sebesar 27,86 ppm, yang termasuk kategori sangat aktif (<50 ppm) menurut Kurnia *et al.* (2019). Ekstrak 96% memiliki IC₅₀ jauh lebih tinggi (98,10 ppm), mengindikasikan potensi yang lebih rendah. Sementara itu, IC₅₀ natrium diklofenak tercatat sebesar 16,86 ppm, yang menguatkan efektivitasnya sebagai antiinflamasi standar. Kehadiran zat bioaktif seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan steroid yang telah ditemukan melalui penyaringan fitokimia kemungkinan besar menjadikan ekstrak etanol 70% efektif dalam mencegah denaturasi protein (Yunusa *et al.*, 2024).

Flavonoid menghambat jalur asam arakidonat dan enzim COX, mirip mekanisme NSAID (Hakim 2021). Tanin menetralkan

oksidan yang memperparah inflamasi (Rochma *et al.*, 2022), saponin menstabilkan membran sel (Dewi *et al.* 2020), steroid memodulasi ekspresi gen proinflamasi (Hakim 2021), dan alkaloid menekan pelepasan mediator inflamasi (Fachri *et al.* 2018). Dengan demikian, hasil penelitian ini menunjukkan ekstrak etanol 70% daun *Terminalia mantaly* memiliki aktivitas antiinflamasi yang kuat, terutama karena kandungan metabolit sekunder polar yang efektif mencegah denaturasi protein. Ini memberikan prospek besar sebagai kandidat antiinflamasi alami alternatif yang aman dan efektif.

Kesimpulan

Penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak etanol daun *Terminalia mantaly* memiliki potensi antiinflamasi yang sangat kuat secara *in vitro*, dibuktikan melalui metode denaturasi protein BSA. Nilai IC₅₀ sebesar 37,86 ppm menunjukkan efektivitas ekstrak dalam menghambat kerusakan struktur protein akibat pemanasan, suatu proses yang menyerupai mekanisme peradangan pada jaringan. Skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid, yang diketahui memiliki peran penting dalam mekanisme antiinflamasi, baik sebagai antioksidan, penghambat mediator inflamasi, maupun penstabil membran. Selain itu, penggunaan pelarut etanol 70% menghasilkan daya hambat denaturasi protein yang lebih tinggi dibandingkan etanol 96%. Hal ini diduga karena kemampuan etanol 70% dalam mengekstraksi senyawa polar dan semi-polar lebih optimal, khususnya flavonoid dan tanin, yang berperan besar dalam efek antiinflamasi. Meskipun daya hambatnya belum sepenuhnya menyamai kontrol positif (natrium diklofenak), tren peningkatan inhibisi yang konsisten pada konsentrasi rendah menunjukkan bahwa ekstrak daun *Terminalia mantaly* berpotensi dikembangkan sebagai agen antiinflamasi alami yang efektif, aman, dan berkelanjutan

Ucapan Terima Kasih

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penelitian ini dapat diselesaikan. Ucapan terima kasih penulis

sampaikan kepada para pembimbing, rekan sejawat, serta pihak-pihak yang telah memberikan bantuan, baik berupa ilmu, fasilitas, maupun semangat. Dukungan dan doa dari keluarga juga menjadi kekuatan utama yang mengiringi tersusunnya artikel ini.

Referensi

- Akmal, T., Julianti, A. I., Tanjung, Y. P., Mutiara, P., & Febriyanti, S. (2024). Effect of extraction method on total phenolic content and antioxidant activity of *Terminalia catappa* (L.) leaves. *PHARMASIPHA: Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*, 8(2), 1-11. <https://ejournal.unida.gontor.ac.id/index.php/pharmasipha/article/view/11363>
- Arisanti Y. (2025). Perbandingan efektivitas pelarut terhadap ekstraksi senyawa bioaktif pada tanaman herbal. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 12(1), 45–52.
- Basuki E, Widyastuti S, Prarudiyanto A, Saloko S, Cicilia S dan Amaro M. (2019). *Buku Ajar Kimia Pangan*. Penerbit Universitas Mataram Press. Mataram.
- Chen L, Cui H, Deng H, Fang J, Zuo Z, Deng J dan Zhao L. (2018). Inflammatory responses and inflammation - associated diseases in organs. *Oncotarget*. 9(6), 7204–7218. 10.18632/oncotarget.23208
- Das S, Das J, Paul R dan Samadder A. (2021). Natural anti-inflammatory compounds: Recent advances and future perspectives. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 137, 111398.
- Dewi B A, Setianto R dan Rosita, F. (2020). Uji Aktivitas Tanaman Pangotan (*Microsorium beurgerianum* (Miq.) Ching) Sebagai Antiinflamasi Secara *In vitro* dengan Metode HRBC (Human Red Blood Cell). *Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 1(2), 15–20. <https://doi.org/10.35799/pha.14.2025.59851>
- Do Q D, Angkawijaya A E, Tran-Nguyen P L, Huynh L H, Soetaredjo F E, Ismadji, S dan Ju YH. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food*

- and Drug Analysis*, 22(3), 296–302. 10.1016/j.jfda.2013.11.001
- Dougnon V T, Bankolé H S, Fah L O dan Gbenou J D. (2023). In vitro antioxidant and antimicrobial activities of *Terminalia mantaly* leaves extract. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 20(1), 50–58. 10.4314/dujopas.v10i4a.7
- Ebele C O. (2021). Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of *Terminalia mantaly* Leaves Extracts. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 12(7), 3429–3434. 10.61569/mdfckm70
- Fachri H O, Adriatmoko W dan Astuti P. (2018). Khasiat Ekstrak Buah Markisa Kuning (*P. Edulis Sims*) sebagai Antiinflamasi Dilihat dari Jumlah Monosit pada Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Kedokteran Gigi*, 15(2), 34–36. <https://doi.org/10.19184/stoma.v15i2.17930>
- Farida Y, Rahmat D dan Widia Amanda A. (2018). Uji Aktivitas Antiinflamasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 16(2), 225–230. <https://doi.org/10.35814/jifi.v16i2.569>
- Fitriyani, R. (2022). *Pemanfaatan Ekstrak Daun Cocok Bubu (Elatostema rostratum (Blume) Hassk) Sebagai Bioinsektisida Terhadap Hama Ulat Kubis (Plutella xylostella L.) Dan Hama Ulat Grayak (Spodoptera litura F.)* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Sukabumi).
- Goyal M, Bansal P & Singh A. (2020). Adverse effects of NSAIDs and their safer alternatives. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, 9(3), 413–420. 10.4103/0976-500X.77104
- Hakim R. (2021). Anatomi, Histologi, Fisiologi Sistem Rongga Mulut. *Syiah Kuala University Press*. Banda Aceh.
- Harborne J B. (1998). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis* (3rd ed.). London: Chapman & Hall.
- Husna. (2021). *Optimization maceration & rotary evaporator for flavonoid membrane*. Atlantis Press.
- Jotham A A. (2024). Comparative Antiplasmodial Efficacy and Phytochemical Composition of Methanolic Extracts of *Terminalia mantaly*. *African Journal of Biomedical Research*, 27(2), 115–123.
- Kim H J, Lee S G, Kim D J, Lee H J dan Park J H Y. (2022). Protective effect of *Terminalia chebula* fruit extract against oxidative stress and inflammation: Evidence from in vitro and in vivo models. *Molecules*, 29(23), 5547. 10.1007/s10068-018-0477-z
- Kipré G R., Agré D J, Djyh B N, Ouattara L, dan Djaman A J. (2023). Evaluation of the antioxidant potential and phytochemical analysis of *Terminalia mantaly* and *Terminalia ivorensis*. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 13(1), 57–60. <https://jddtonline.info/index.php/jddt/article/view/5872>
- Kokate C K, Purohit A P dan Gokhale S B. (2010). *Pharmacognosy* (45th ed.). Pune: Nirali Prakashan.
- Kumar V, Abbas A dan Aster J. (2020). Buku Ajar Patologi Dasar Robbins Edisi Ke-10. *Penerbit Elsevier Inc*. Singapore.
- Kurnia D, Prisdianti N, Marlina L dan Nurochman Z. (2019). Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Mikroalga Laut *Chlorella Vulgaris* Dengan Metode Stabilitas Sel Darah Merah Manusia, *Jurnal Kartika Kimia*. 2 (2), 57–62. <https://doi.org/10.26874/jkk.v2i2.34>
- Mohamed G A, Ibrahim S R dan El-Halawany A M. (2023). Bioactive natural products with anti-inflammatory activities from medicinal plants. *Pharmaceutical Biology*, 61(1), 363–380.
- Noreen H, Semmar N, Farman M dan McGaw L J. 2020. Antioxidant and Antibacterial Activities of Some Selected Indigenous Medicinal Plants from Pakistan. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 12(4), 6–15.
- Novika D S, Ahsanunnisa R dan 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.
- Ratri L K, Nugraha C D A, Rahma N H dan Afifah D N 2022. Potensi Tangkai Terong (*Solanum melongena*) Sebagai Immune Booster. *Journal of Nutrition College*, 11(2), 105–113.
- Rochma E N, Sunarni T dan Widodo G P. (2022). Aktivitas Antiinflamasi Fraksi Analgetik dan Daun Ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz.) Pada Tikus Jantan Galur Wistar dan Keamanannya Terhadap Lambung. *Indonesia*, 19(1), 14–29.
- Rohmah U N dan Yuanita L. (2022). Pengaruh Waktu Panen Terhadap Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Anti-Inflamasi Ekstrak Etanol Daun sonchifolius. Yakon *Smallanthus* UNESA *Journal of Chemistry*, 7(2), 144–150.
- Rusli Z dan Setiani L A. (2020). Modifikasi Metode Analisis Daya Hambat terhadap Proses Denaturasi Protein yang Diinduksi oleh Panas. *CHEESA: Chemical Engineering Research Articles*, 3(2), 55.
- Sakat S, Juvekar A R dan Gambhire M N. (2010). In vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of *Oxalis corniculata* Linn. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 146–155.
- Salih M, Abdelghani N S dan Ahmed A H. (2020). *Anti-inflammatory activities of phytochemicals: Mechanisms and therapeutic potentials. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, 1–12.
- Sari D K, Lestari R S D, Ridho M K M dan Lusi U T. (2018). Extraction total phenolic content of ketapang leaves (*Terminalia catappa*) using ultrasonic. *World Chemical Engineering Journal*, 2(1), 6–11.
- Sasidharan S, Chen Y, Saravanan D, Sundram K M dan Yoga Latha L. (2011). Extraction, Isolation and Characterization of Bioactive Compounds from Plants' Extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(1), 1–10.
- Tchatat Tali G D, Lenta B N, Ngouela S A, Tantoh D M, Noumedem J A dan Boyom F F. (2020). Antiplasmodial and antimicrobial activities of *Terminalia mantaly* and *Terminalia superba* extracts. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20, 199.
- Tubtimdee C dan Phaechemud T. (2011). Extraction of phenolic compounds from *Terminalia chebula* using ethanol–water solvent. *Journal of Ethnopharmacology*, 138(2), 529–536.
- Usman M, Setiawan R, Adi P. (2022). Phytochemical extraction of *Terminalia mantaly* leaves using methanol and ethanol-water solvent (70%). *Jurnal Farmasi Indonesia*, 11(1), 45–52.
- Wati R D, Saputri F C dan Iskandar Y. (2024). Skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan beberapa ekstrak tanaman obat. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 22(1), 33–41.
- Yunusa, A. Y., Yakasai, M. A., & Namadina, M. M. (2024). Evaluation of phytochemical composition, antioxidant activity, and antibacterial properties of *Terminalia mantaly* H. perrier leaf extract. *Dutse Journal of Pure and Applied Sciences*, 10(4a), 60-69.