

Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol Ashitaba (*Angelica keiskei*) Secara *In Vitro*

Mariama Fitriana¹, Wahida Hajrin^{2*}, Windah Anugrah Subaidah¹, Sucilawaty Ridwan¹, Eskarani Tri Pratiwi¹

¹Program Studi Farmasi, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia;

²Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia;

Article History

Received : November 28th, 2024

Revised : December 20th, 2024

Accepted : December 18th, 2024

*Corresponding Author:

Wahida Hajrin,

Universitas Mataram, Mataram,
Indonesia;

Email: wh_wahida@unram.ac.id

Abstract: *Angelica keiskei* has potential as an anti-inflammatory agent because it contains chalcone which has been proven to be able to suppress inflammation through inhibiting nitric oxide production and inhibiting the expression of the iNOS and COX-2. The anti-inflammatory potential of *Angelica keiskei* needs to be tested. This study aimed to determine the anti-inflammatory activity of *Angelica keiskei* ethanol extract using the protein denaturation inhibition method. *Angelica keiskei* was extracted using the sonication method with 96% ethanol. The extract was tested for anti-inflammatory activity using the protein denaturation inhibition method with diclofenac sodium as a positive control. The percent of inflammatory inhibition is used to assess sample activity. The results showed that the percent of inflammatory inhibition of *Angelica keiskei* ethanol extract increased as the test concentration increased. The maximum percent inhibition was obtained at a concentration of 1.5% with the percent of inflammatory inhibition value of $23.14\% \pm 0.05$. *Angelica keiskei* ethanol extract has anti-inflammatory activity based on in vitro testing using the protein denaturation inhibition method.

Keywords: *Angelica keiskei*; anti-inflammatory effect; percent of inhibition; protein denaturation.

Pendahuluan

Inflamasi adalah respon normal tubuh untuk melindungi tubuh dari cedera jaringan yang disebabkan oleh trauma, bahan kimia, atau mikroba (Bhutia, 2020). Keseimbangan pada kaskade inflamasi sangat berpengaruh terhadap proses penyembuhan (Shukla *et al.*, 2019). Jika respon inflamasi berlebihan maka diperlukan obat antiinflamasi untuk mengontrol tingkat inflamasi yang aman (Almira *et al.*, 2021).

Obat antiinflamasi steroid dan nonsteroid merupakan pilihan terapi yang biasa digunakan dalam mengontrol kondisi inflamasi (Katzung, 2018). Akan tetapi, terdapat resiko efek samping pada sistem pencernaan terkait penggunaan obat antiinflamasi nonsteroid yang *linear* seiring waktu (Goldstein & Cryer, 2015). Selain itu, pengobatan jangka panjang dengan kortikosteroid meningkatkan risiko osteoporosis akibat adanya gangguan pada proses pergantian tulang (Money, 2017). Oleh karena itu, perlu adanya eksplorasi sumber alternatif obat

antiinflamasi yang berasal dari tanaman dan dengan rute pemberian topikal. Obat berbahan herbal memiliki insidensi efek samping yang lebih kecil atau relatif lebih aman dibandingkan dengan obat sintetis (Bailey-shaw *et al.*, 2017).

Ashitaba (*Angelica keiskei*) merupakan tanaman sejenis seledri yang telah diketahui memiliki berbagai aktivitas farmakologi. Secara empiris, daun ashitaba dikonsumsi oleh masyarakat Sembalun, Lombok Timur, sedangkan getahnya digunakan untuk mengobati luka topikal (Wirasisya *et al.*, 2018). Kandungan bioaktif utama pada ashitaba yaitu senyawa kalkon berupa *4-hydroxyderricin* dan *xanthoangelol* (Caesar & Cech, 2016). Mekanisme antiinflamasi senyawa kalkon salah satunya adalah dengan menekan produksi mediator inflamasi seperti nitrit oksida (NO), serta menghambat enzim *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) dan COX-2 (Chang *et al.*, 2014). Selain itu, senyawa kalkon juga terbukti memiliki aktivitas sebagai antioksidan (IC_{50} sebesar $8,5 \mu M$ pada senyawa *xanthoangelol*)

dengan mencegah terjadinya stress oksidatif melalui penghambatan enzim *xanthin oksidase* (Kim et al., 2014). Mengatasi stress oksidatif dengan antioksidan merupakan salah satu strategi terapeutik pada inflamasi (Huang et al., 2021).

Uji efek antiinflamasi ashitaba telah dilakukan, namun banyak terfokus pada uji secara *in vivo*. Pada penelitian Rachma et al. (2021) dilakukan uji analgetic dan antiinflamasi secara *in vivo* dan dinilai keamanannya terhadap lambung. Penelitian lain menyatakan bahwa aktivitas inflamasi daun ashitaba memberikan efek pada dosis 1000 mg/KgBB tikus secara *in vivo* (As'ada et al., 2018). Uji *in vitro* yang dilakukan menggunakan metode

Penelitian efek antiinflamasi ashitaba sebelumnya terfokus pada uji efek antiinflamasi sistemik bagian daun ashitaba secara *in vivo*. Pada penelitian Rochma et al. (2021) dilakukan uji analgetik dan antiinflamasi fraksi dari ekstrak ashitaba secara *in vivo* dan dinilai keamanannya terhadap lambung. Penelitian lain menyatakan bahwa aktivitas inflamasi ekstrak daun ashitaba memberikan efek penghambatan udem tertinggi sebesar 83,95% pada dosis 1000 mg/KgBB tikus secara *in vivo* (As'ada et al., 2018). Penelitian oleh Athallah (2024) juga menunjukkan adanya efek antiinflamasi ekstrak daun ashitaba pada mencit secara *in vivo*. Uji efek antiinflamasi topikal ekstrak ashitaba belum dilakukan. Uji *in vitro* dapat menjadi skrining awal untuk menilai efek antiinflamasi topikal. Salah satu metode uji antiinflamasi secara *in vitro* adalah penghambatan denaturasi protein. Denaturasi protein merupakan satu di antara penyebab terjadinya inflamasi (Bailey-shaw et al., 2017), sehingga agen yang dapat menghambat denaturasi protein memiliki potensi untuk pengembangan obat antiinflamasi (Chandra et al., 2012). Oleh karena itu, penelitian secara *in vitro* perlu dilakukan untuk menilai aktivitas antiinflamasi ekstrak ashitaba dengan metode penghambatan denaturasi protein. Hasil ini diharapkan dapat menjadi dasar untuk melanjutkan penelitian ke arah uji antiinflamasi topikal secara *in vivo* dalam rangka pengembangan ekstrak ashitaba sebagai agen antiinflamasi topikal.

Bahan dan Metode

Alat dan bahan penelitian

Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, *hotplate*, *magnetic stirrer*, *rotary evaporator* (*Heidolph®*) dan *chiller* (*Huberminichiller®*), sonikator (*Elmasonic®*), spektrofotometer UV/Vis Analytic Jena Specord 200 plus, timbangan analitik (*Ohaus dan KERN®*), vortex (*Labnet International®*), pH meter dan *waterbath*. Bahan yang digunakan adalah aquadest, etanol 96% (teknis), FeCl₃ 5% (*Merck®*), NaCl, HCl (*Mallinckrodt®*), herba ashitaba, KCl, KH₂PO₄ (*Merck®*), n-heksana (*Sigma-Aldrich®*), Na₂HPO₄ (*Merck®*), Natrium diklofenak (*Aarti Drugs Limited®*), serbuk Mg (*Merck®*), telur ayam kampung.

Pembuatan ekstrak ashitaba

Sampel ashitaba yang diambil adalah seluruh bagian tanaman yang meliputi akar, batang, daun, dan bunga. Sampel kemudian dilakukan sortasi basah dan dicuci bersih menggunakan air yang mengalir (Febrianto et al., 2023). Herba dirajang sepanjang 1-2 cm kemudian dijemur menggunakan sinar matahari hingga kering. Selama proses penjemuran, sampel ditutup dengan kain hitam. Simplisia selanjutnya diblender dan diayak menggunakan ayakan no. mesh 70 (Muliasari et al., 2023). Sebanyak 100 gram simplisia diekstraksi dengan 700 mL etanol 96% (1:7) menggunakan metode sonikasi pada suhu 30°C selama 15 menit. Proses ekstraksi diulang sebanyak tiga kali. Filtrat yang dihasilkan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga dihasilkan ekstrak yang kental.

Ekstrak ashitaba dideklofilasi dengan cara melarutkan ekstrak dalam 100 mL n-heksan teknis dan dilakukan partisi padat-cair. Proses deklorofilasi diulang dengan jumlah pelarut yang sama hingga diperoleh warna filtrat n-heksan yang tidak berubah pada dua ekstraksi terakhir. Ekstrak diuji kadar airnya dengan cara menimbang 0,5 gram ekstrak ashitaba, diletakkan pada wadah *moisture analyzer* yang sudah dilapisi *alumunium foil*. Setelah itu, diatur suhu *moisture analyzer* pada 105°C. Tombol *start* pada *moisture analyzer* ditekan untuk mengukur kadar air ekstrak (Depkes RI, 2000).

Skrining fitokimia ekstrak ashitaba

a. Uji flavonoid

Sampel ekstrak ashitaba ditimbang 0,5 gram dan dilarutkan dalam 5 mL etanol 96%. Larutan uji diambil 2 mL, ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 10 tetes HCl pekat. Hasil positif flavonoid ditunjukkan jika terjadi perubahan warna menjadi merah atau jingga. Jika terbentuk warna kuning jingga menunjukkan adanya flavon, kalkon, dan auron (Setiani et al., 2017).

b. Uji fenolik

Larutan uji 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2-3 tetes FeCl₃ 5%. Hasil positif senyawa fenol ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi hitam (Situmeang et al., 2016).

c. Uji saponin

Sampel ekstrak ashitaba ditimbang 0,5 gram dan dilarutkan dalam 5 mL aquadest. Larutan dipanaskan selama 5 menit lalu didinginkan. Sampel digojog selama 5 menit dan diamati pembentukan buih setinggi kurang lebih 1 cm yang stabil selama 10 menit (Dewi, 2020).

d. Uji tanin

Larutan uji 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl₃ 5%. Perubahan warna menjadi warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat menunjukkan sampel mengandung tanin (Situmeang et al., 2016).

Uji aktivitas antiinflamasi ekstrak ashitaba secara *in vitro*

Uji aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol ashitaba dilakukan dengan metode penghamatan denaturasi protein.

1. Pembuatan Phosphate Buffer Saline (PBS)

Larutan PBS dibuat dengan menimbang sebanyak 0,8 gram serbuk NaCl, 0,02 gram serbuk KCl, 0,144 gram Na₂HPO₄, dan 0,024 g KH₂PO₄ kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquadest. Selanjutnya dilakukan pengaturan pH hingga diperoleh pH 7,4. Larutan PBS dapat disimpan dalam kulkas 4°C hingga digunakan (Suratmi & Haryanto, 2021).

2. Preparasi albumin dari putih telur

Telur ayam kampung diperoleh dari peternakan ayam kampung Desa Sukadana, Kecamatan Terara, Kabupaten Lombok Timur dengan kriteria berumur <10 hari. Albumin telur dipreparasi berdasarkan metode Kulla & Chrisandy (2018) dan Irawati (2021) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 10,0 gram putih telur ayam ditimbang kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 1 menit pada kecepatan rendah. Selanjutnya, ditambahkan 50 mL aquadest dan diaduk kembali dengan *magnetic stirrer* selama 5 menit. Larutan putih telur tersebut kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Bagian supernatan diambil untuk digunakan sebagai komponen albumin pada larutan uji.

3. Penyiapan larutan uji

Larutan induk ekstrak etanol ashitaba 3% b/v diencerkan hingga diperoleh variasi konsentrasi 2,5%; 2%; 1,5%; 1%; 0,75%; 0,5%; 0,25%; dan 0,1% b/v. Masing-masing variasi konsentrasi ekstrak etanol diambil 2,0 mL kemudian ditambahkan 2,5 mL larutan PBS dan 0,5 mL albumin telur (Fasse & Gottschalk, 2023).

Larutan kontrol positif natrium diklofenak 1% dalam aquadest digunakan untuk membuat larutan dengan variasi konsentrasi 0,1%; 0,25%; 0,5%; 0,75%; dan 1% b/v. Masing-masing variasi konsentrasi larutan diambil 2,0 mL kemudian ditambahkan 2,5 mL larutan PBS dan 0,5 mL albumin telur (Fasse & Gottschalk, 2023).

Larutan uji kontrol negatif disiapkan dengan mengambil sebanyak 2,0 mL aquadest kemudian ditambahkan 2,5 mL larutan PBS dan 0,5 mL albumin telur. Blanko yang digunakan adalah aquadest.

4. Pengujian aktivitas antiinflamasi secara *in vitro*

Setiap larutan uji (ekstrak, kontrol positif, dan kontrol negatif) diinkubasi pada *waterbath* suhu 37±2°C selama 15 menit kemudian dipanaskan di atas *waterbath* pada suhu 70±2°C selama 5 menit. Selanjutnya, larutan didinginkan pada suhu ruang kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis

pada panjang gelombang 660 nm (Bhutia, 2020).

Persentase penghambatan denaturasi protein masing-masing konsentrasi dihitung berdasarkan persamaan (1) berikut.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \quad (1)$$

dengan A_0 adalah absorbansi kontrol negatif dan A_1 adalah absorbansi larutan uji.

Analisis data

Data persentase inhibisi masing-masing larutan uji diuji normalitas dan homogenitas menggunakan SPSS, dilanjutkan dengan uji nonparametric *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney*.

Hasil dan Pembahasan

Pembuatan ekstrak ashitaba

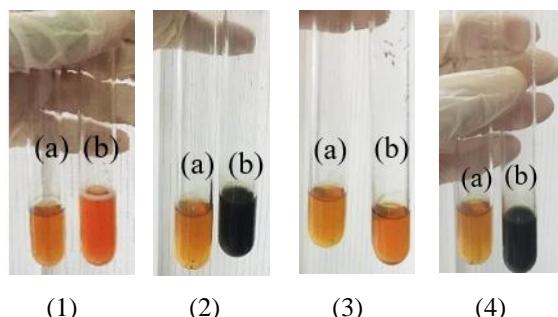
Ekstrak ashitaba yang diperoleh dari hasil ekstraksi dan deklorofilasi memiliki karakteristik sesuai dengan Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik ekstrak ashitaba

No	Parameter	Hasil
1	Rendemen	27,822%
2	Organoleptis	Warna coklat kehijauan, tekstur kental, aroma khas ashitaba
3	Kadar air	1,09 % ± 0,24

Skrining fitokimia ekstrak ashitaba

Hasil uji kualitatif kandungan senyawa pada ekstrak ashitaba dapat dilihat pada gambar 1. Rangkuman hasil uji dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 1. Hasil uji kualitatif kandungan senyawa ekstrak ashitaba. Flavonoid (1), fenolik (2), saponin (3), tanin (4)

Ket: sebelum uji (a), setelah uji (b)

Tabel 2. Rangkuman hasil skrining fitokimia ekstrak ashitaba

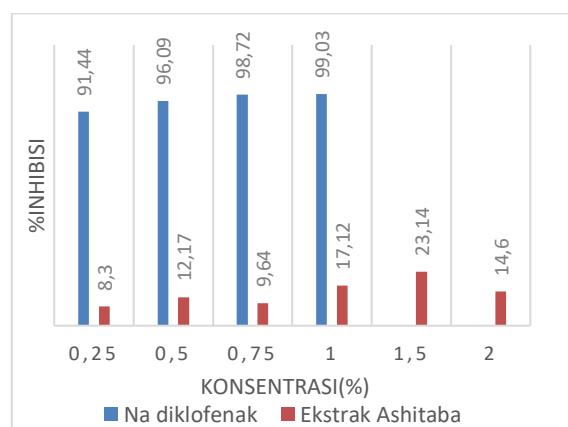
No	Senyawa Uji	Hasil	Ket.
1	Flavonoid	Larutan uji berwarna orange	+
2	Fenolik	Larutan uji berwarna hitam	+
3	Saponin	Tidak terbentuk busa	-
4	Tanin	Larutan uji berwarna hitam	+

Ket. + : mengandung senyawa uji

- : tidak mengandung senyawa uji

Uji aktivitas antiinflamasi ekstrak ashitaba

Hasil uji aktivitas antiinflamasi ekstrak ashitaba dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Persen inhibisi kontrol positif (natrium diklofenak) dan ekstrak ashitaba

Pembahasan

Pembuatan ekstrak ashitaba

Bagian tanaman ashitaba yang digunakan adalah herba atau seluruh bagian tanaman meliputi akar, batang, daun, dan bunga dengan kriteria tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua. Ciri-ciri tanaman yang memenuhi kriteria tersebut yaitu memiliki batang yang masih lunak, daun dan batangnya berwarna hijau tua namun tidak terlalu tua, serta masih aktif berbunga. Kandungan metabolit pada tanaman yang terlalu muda belum maksimal dan jika terlalu tua kandungan metabolit tanaman banyak berkurang (Pranajaya, 2015).

Pembuatan simplisia dimulai dengan proses sortasi basah yang bertujuan untuk memisahkan pengotor yang menempel pada sampel, seperti tanah, rumput, kerikil, serta bagian yang tidak diinginkan kemudian dicuci sebanyak tiga kali untuk menghilangkan kotoran

dan mikroba yang menempel. Herba ashitaba dikeringkan dengan metode penjemuran dengan sinar matahari dan ditutup menggunakan kain hitam untuk mengurangi kadar air pada simplisia sehingga tidak terjadi reaksi enzimatis yang dapat menguraikan zat aktif pada simplisia (Wijaya & Noviana, 2022). Penguraian secara enzimatis terjadi dalam kondisi lembab seperti oksidasi dan hidrolisis. Simplisia kering dihaluskan dengan blender agar proses ekstraksi semakin efisien sehingga rendemen yang dihasilkan semakin besar. Simplisia herba ashitaba yang diperoleh memiliki bentuk serbuk halus, beraroma khas dan kuat, serta berwarna hijau kecoklatan.

Rendemen ekstrak kental ashitaba yang diperoleh yaitu sebesar 27,822%. Rendemen yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi daripada rendemen pada penelitian Hamid *et al.* (2023) dengan perolehan persentase rendemen ekstrak metanol ashitaba dengan metode maserasi yaitu sebesar 20,863%. Perbedaan persentase rendemen yang diperoleh dapat disebabkan karena beberapa faktor seperti perbedaan pelarut dan metode ekstraksi yang digunakan. Penggunaan pelarut etanol diketahui dapat menarik senyawa flavonoid dan fenolik secara optimum (Ramadhani *et al.*, 2020). Metode ekstraksi sonikasi yang melibatkan penerapan gelombang suara berintensitas tinggi diketahui dapat meningkatkan perolehan sampel (Gupta *et al.*, 2012). Penelitian Sun *et al.* (2011) menghasilkan rendemen tertinggi dengan metode sonikasi pada beberapa flavonoid dalam waktu yang lebih singkat dibandingkan dengan maserasi dan sokhletasi.

Ekstrak ashitaba dideklorofilasi untuk memurnikan ekstrak dari senyawa *ballast*. Proses deklorofilasi dapat menghilangkan zat pengganggu dan mengoptimalkan aktivitas senyawa yang terdapat dalam ekstrak (Muliasari *et al.*, 2023). Adanya klorofil pada sampel menyebabkan ekstrak berwarna hijau gelap sehingga menyebabkan warna sediaan kurang menarik secara organoleptis (Hadi *et al.*, 2023). Pelarut yang digunakan untuk deklorofilasi yaitu n-heksan, karena memiliki sifat yang sama dengan klorofil (Leksono *et al.*, 2018; Rahim *et al.*, 2022).

Skrining fitokimia ekstrak ashitaba

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak

ashitaba berdasarkan gambar 1 dan tabel 2, menunjukkan bahwa sampel ekstrak ashitaba memiliki kandungan senyawa flavonoid, fenolik, dan tanin dan tidak mengandung senyawa saponin. Hasil yang diperoleh serupa dengan penelitian Wahyudi (2023), yaitu ekstrak metanol herba ashitaba memiliki kandungan senyawa flavonoid, fenolik, tanin, alkaloid, dan tidak mengandung senyawa saponin. Selain itu, penelitian oleh Pebiansyah *et al.* (2019) juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang ashitaba memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol, tanin, dan tidak mengandung senyawa saponin.

Uji aktivitas antiinflamasi ekstrak ashitaba

Uji aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan metode penghambatan denaturasi protein. Pada uji ini, albumin putih telur ayam digunakan sebagai model protein. Jenis putih telur yang digunakan yaitu putih telur ayam kampung karena memiliki kadar protein yang lebih tinggi (1229,5 mg/mL) dibandingkan dengan putih telur ayam ras (863,3mg/mL) (Ramadhani *et al.*, 2018). Jumlah volume supernatan albumin yang diperoleh dari 10 g putih telur yang dilarutkan dalam 50 mL aquadest yaitu sebanyak 48 mL. Hasil uji aktivitas antiinflamasi ekstrak ashitaba dibandingkan dengan kontrol positif natrium diklofenak tercantum pada gambar 2. Natrium diklofenak digunakan sebagai kontrol karena OAINS yang paling banyak digunakan untuk mengatasi nyeri akibat inflamasi (Bhutia, 2020). Aktivitas antiinflamasi dinyatakan dalam persentase inhibisi terhadap denaturasi protein. Nilai persen inhibisi lebih dari 20% menunjukkan adanya aktivitas antiinflamasi sampel (Almira *et al.*, 2021).

Berdasarkan Gambar 2, diketahui bahwa persentase inhibisi natrium diklofenak pada semua variasi konsentrasi (0,1-1%) bernilai $>20\%$ yang menunjukkan adanya aktivitas antiinflamasi. Persentase inhibisi natrium diklofenak meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi dimana persentase inhibisi tertinggi diperoleh pada konsentrasi 1% yaitu sebesar $99,03\% \pm 0,04$. Hasil uji statistik menunjukkan data normal ($p\text{-value}=0,159$). dan tidak homogen ($p\text{-value}=0,003$). Pada natrium diklofenak, hasil uji statistik menunjukkan ada perbedaan signifikan pada konsentrasi 0,25%;

0,5%; dan 0,75% ($p\text{-value}=0,000$). Kelompok uji dengan konsentrasi 0,75% dan 1,0% tidak memiliki perbedaan signifikan ($p\text{-value}=0,513$). Hal ini menunjukkan bahwa persen inhibisi natrium diklofenak pada konsentrasi 0,75% dan 1,0% sama.

Natrium diklofenak termasuk obat antiinflamasi non steroid (OAINS) yang salah satu mekanisme kerjanya adalah berikatan dengan protein albumin plasma sehingga mencegah atau menghambat terjadinya denaturasi termal pada albumin (Bailey-shaw *et al.*, 2017). Penelitian oleh Zhang *et al.* (2015) menunjukkan bahwa gugus karboksilat pada natrium diklofenak dapat membentuk ikatan hidrogen dengan residu lisin, arginin, dan serin pada *Human Serum Albumin* (HSA).

Aktivitas antiinflamasi ekstrak ashitaba dengan persentase inhibisi $>20\%$ dicapai pada konsentrasi 1,5% dengan nilai persentase inhibisi $23,14\%\pm0,05$ (gambar 2). Hasil uji statistik menunjukkan data normal ($p\text{-value}=0,087$) dan tidak homogen ($p\text{-value}=0,002$). Hasil uji beda seluruh kelompok menunjukkan ada perbedaan signifikan pada semua konsentrasi ($p\text{-value}=0,000$). Hal ini menunjukkan bahwa persen inhibisi natrium diklofenak pada konsentrasi 0,75% dan 1,0% sama, namun persen inhibisi yang dapat memberikan aktivitas antiinflamasi adalah ekstrak ashitaba dengan konsentrasi 1,5%.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia, ekstrak etanol ashitaba diketahui mengandung senyawa-senyawa seperti flavonoid, fenolik, dan tanin. Senyawa polifenol diketahui dapat membentuk kompleks dengan protein yang mengakibatkan perubahan pada struktur sekunder dan tersier protein serta meningkatkan stabilitas termal (Ozdal *et al.*, 2013). Fenolik dan flavonoid memiliki cincin aromatik dan gugus hidroksil yang dapat berinteraksi dengan residu asam amino pada protein dengan membentuk kompleks non-kovalen reversibel seperti ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik sehingga menstabilkan protein dan mencegah denaturasi protein yang disebabkan oleh panas (Almira *et al.*, 2022).

Penelitian oleh Sangeetha & Vidhya (2016) menunjukkan bahwa fitokomponen yang terkandung dalam ekstrak *Pedalium murex* seperti polifenol, flavonoid dan triterpenoid bertanggungjawab atas aktivitas antiinflamasi

berdasarkan metode inhibisi denaturasi protein. Penelitian serupa oleh Bouhlali *et al.* (2016) mengenai aktivitas antiinflamasi beberapa tanaman obat Maroko seperti ekstrak bunga *Rosa damascene* dan daun *Lawsonia inermis L* menunjukkan bahwa aktivitas antiinflamasi kedua ekstrak tersebut tergolong efektif berdasarkan nilai IC₅₀ terhadap inhibisi denaturasi protein (berturut-turut sebesar 129,04 µg/mL dan 103,21 µg/mL), mendekati nilai IC₅₀ natrium diklofenak (86,75 µg/mL). Efek antiinflamasi *in vitro* dari tumbuhan tersebut diduga disebabkan oleh efek sinergis dari kandungan polifenol, seperti fenolik dan flavonoid (Bouhlali *et al.*, 2016).

Pola aktivitas antiinflamasi ekstrak ashitaba meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi (0,25-1,5%) dengan aktivitas tertinggi dicapai pada konsentrasi 1,5%. Akan tetapi, aktivitas antiinflamasi ekstrak ashitaba menurun pada konsentrasi diatas 1,5%. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak 1,5% memberikan aktivitas antiinflamasi paling baik pada percobaan ini. Namun, prinsip metode uji ini adalah kekeruhan atau turbiditas larutan uji, sehingga kepekatan warna larutan uji akibat konsentrasi ekstrak yang tinggi dapat terbaca sebagai kekeruhan pada spektrofotometer. Hal ini menyebabkan absorbansi yang terbaca semakin tinggi sehingga menghasilkan persen inhibisi yang rendah.

Kesimpulan

Aktivitas antiinflamasi ekstrak ashitaba berdasarkan metode penghambatan denaturasi protein menunjukkan pola yang meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi dan mencapai aktivitas maksimum pada konsentrasi 1,5% dengan nilai rata-rata persentase inhibisi sebesar $23,14\%\pm0,05$. Hasil uji ini menunjukkan bahwa ekstrak ashitaba memiliki potensi sebagai antiinflamasi pada konsentrasi 1,5%. Perlu dilakukan uji aktivitas antiinflamasi dengan metode lain sebagai pembanding hasil yang diperoleh.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Mataram yang telah memberikan dukungan dalam penyelesaian

penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam proses penelitian hingga penyusunan artikel ini.

Referensi

- Almira, D., Subaidah, W. A., Ananto, A. D., Deccati, R. F., & Muliasari, H. (2021). In vitro concentration optimization of ethanol extract from Makasar fruit seeds (*Brucea javanica* L. Merr) as an anti-inflammatory agent. *Jurnal Pijar Mipa*, 16(5), 595–599. <https://doi.org/10.29303/jpm.v16i5.2655>
- As'ada, H., Saibi, Y., & Aldrat, H. (2018). Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol 70% Daun Ashitaba (Angelica Keiskei) Secara In vivo dengan Penginduksi Karagenan. *JFL : Jurnal Farmasi Lampung*, 7(2), 75–80. <https://doi.org/10.37090/jfl.v7i2.56>
- Athallah, M. D. N. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan, Antiinflamasi dan Analgetik Ekstrak Etanol Daun Ashitaba (Angelica keiskei) Terhadap Mencit (*Mus musculus*). *Tesis*. Universitas Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya.
- Bailey-shaw, Y. A., Williams, L. A. D., Green, C. E., Rodney, S., & Smith, A. M. (2017). In-vitro evaluation of the anti-inflammatory potential of selected Jamaican plant extracts using the Bovine Serum albumin protein denaturation assay. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 47(1), 145–153.
- Bhutia, S. (2020). Evaluation of in Vitro Anti-Inflammatory Activity of Citrus Macroptera Montr. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 13(8), 101–103. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2020.v13i8.38063>
- Bouhlali, E. dine T., Sellam, K., Bammou, M., Alem, C., & Filali-Zehzouti, Y. (2016). In vitro antioxidant and anti-inflammatory properties of selected moroccan medicinal plants. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(5), 156–162. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.60525>
- Caesar, L. K., & Cech, N. B. (2016). A review of the medicinal uses and pharmacology of ashitaba. *Planta Medica*, 82(14), 1236–1245. <https://doi.org/10.1055/s-0042-110496>
- Chandra, S., Chatterjee, P., Dey, P., & Bhattacharya, S. (2012). Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1 SUPPL.), S178–S180. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60154-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60154-3)
- Chang, H. R., Lee, H. J., & Ryu, J. H. (2014). Chalcones from angelica keiskei attenuate the inflammatory responses by suppressing nuclear translocation of NF-κB. *Journal of Medicinal Food*, 17(12), 1306–1313. <https://doi.org/10.1089/jmf.2013.3037>
- Depkes RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Dewi, N. P. (2020). Uji Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.f)dengan Metode Spektrofotometer UV-VIS. *Acta Holistica Pharmaciana*, 2(1), 16–24. <https://doi.org/10.62857/ahp.v2i1.20>
- Fasse, S., & Gottschalk, A. (2023). In Vitro Analysis of the Anti-Inflammatory Activity in Dairy Products Containing *Salicornia Europaea*. *Chemical Engineering Transactions*, 102(October), 73–78. <https://doi.org/10.3303/CET23102013>
- Febrianto, S., Hidayati, A. R., & Muliasari, H. (2023). Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Dari Ekstrak Metanol Herba Ashitaba (*Angelica keiskei*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Skripsi*. Universitas Mataram.
- Goldstein, J. L., & Cryer, B. (2015). Gastrointestinal injury associated with NSAIDuse : a case study and review of risk factors and preventative strategies. *Drug, Healthcare, and Patient Safety*, 7, 31–41. <https://doi.org/10.2147/DHPS.S71976>
- Gupta, A., Naranwal, M., & Kothari, V. (2012). Modern Extraction Methods for Preparation of Bioactive Plant Extracts. *International Journal of Applied and Natural Sciences*, 1(1), 8–26.
- Hadi, I., Meilian, A. M., & Ulfah, M. (2023). Formulasi Dan Evaluasi Sediaan Salep

- Ekstrak Etanolik Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* sp.). *Medimuh: Jurnal Kesehatan Muhammadiyah*, 4(1), 45–52.
<https://doi.org/10.37874/mh.v4i1.485>
- Hamid, A., Hanifa, N. I., & Sunarwidhi, A. L. (2023). Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Metanol Ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Unram Medical Journal*, 12(1), 1283–1290.
<https://doi.org/10.29303/jku.v12i1.851>
- Huang, X., He, D., Pan, Z., Luo, G., & Deng, J. (2021). Reactive-oxygen-species-scavenging nanomaterials for resolving inflammation. *Materials Today Bio*, 11, 100124.
<https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2021.100124>
- Irawati, L. (2021). Penggunaan Putih Telur Ayam Sebagai Pengganti Bovin SerumAlbumin (Bsa) Pada Praktikum Penetapan Protein Metode Lowry. *Prosiding. 5th Seminar Nasional Penelitian & Pengabdian Kepada Masyarakat 2021*, 2(2), 2021.
- Katzung, B. G. (2018). *Basic & Clinical Pharmacology* (14th ed.). McGraw-Hill Education: San Francisco.
- Kim, D. W., Curtis-Long, M. J., Yuk, H. J., Wang, Y., Song, Y. H., Jeong, S. H., & Park, K. H. (2014). Quantitative analysis of phenolic metabolites from different parts of *Angelica keiskei* by HPLC-ESI MS/MS and their xanthine oxidase inhibition. *Food Chemistry*, 153, 20–27.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.026>
- Kulla, A. Y., & Chrisandy, G. (2018). Albumin Dari Putih Telur Ayam Dengan Proses Dialisis Dan Pengeringan. *Skripsi*. Institut Teknologi Surabaya. Surabaya.
- Leksono, W. B., Pramesti, R., Santosa, G. W., & Setyati, W. A. (2018). Jenis Pelarut Metanol Dan N-Heksana Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Gelidium* sp. Dari Pantai Drini Gunungkidul – Yogyakarta. *Jurnal Kelautan Tropis*, 21(1), 9.
<https://doi.org/10.14710/jkt.v21i1.2236>
- Money, S. (2017). The Risks of Chronic Corticosteroid Exposure. *Journal of Pain and Palliative Care Pharmacotherapy*, 31(2), 160–161.
- <https://doi.org/10.1080/15360288.2017.1298689>
- Muliasari, H., Hanifa, N. I., Hajrin, W., Andanalusia, M., & Hidayati, A. R. (2023). Determination of Antioxidants by DPPH Scavenging Activity of Ashitaba Herb (*Angelica keiskei*) Methanol Extract. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(4), 482–490.
<https://doi.org/10.29303/jbt.v23i4.5686>
- Ozdal, T., Capanoglu, E., & Altay, F. (2013). A review on protein – phenolic interactions and associated changes. *Food Research International*, 51(2), 954– 970.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.09>
[Get rights and content](#)
- Pebiansyah, A., Amalia, R., Aulifa, D. L., & Levita, J. (2019). Kadar Kalkon Total Di Dalam Ekstrak Etanol Batang Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi). *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 9(2), 109–115.
<https://doi.org/10.33751/jf.v9i2.1579>
- Pranajaya, I. P. A. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode Deoksiribosa dan Penetapan Kandungan Fenolik Total pada Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.). *Skripsi*. Universitas Sanata Dharma.
- Rochma, E. N., Sunarni, T., & Widodo, G. P. (2021). Aktivitas Analgetik dan Antiinflamasi Fraksi Daun Ashitaba (*Angelica Keiskei* (Miq.) Koidz.) Pada Tikus Jantan Galur Wistar Dan Keamanannya Terhadap Lambung. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 9(1), 14-29.
<https://doi.org/10.31001/jfi.v19i1.827>
- Ramadhani, M. A., Hati, A. K., Lukitasari, N. F., & Jusman, A. H. (2020). SkriningFitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) Dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96 %. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 3(1), 8– 18.
<https://doi.org/10.35473/ijpnp.v3i1.481>
- Sangeetha, G., & Vidhya, R. (2016). In vitro anti-inflammatory activity of differentparts of *Pedalium murex* (L.). *International Journal of Herbal Medicine*, 4(3), 31–36.
- Setiani, L. A., Sari, B. L., Indriani, L., & Jupersio. (2017). Penentuan Kadar Flavonoid

- Ekstrak Etanol 70% Kulit Bawang Merah (*Allium cepa L.*) dengan Metode Maserasi dan MAE (Microwave Assisted Extraction). *Fitofarmaka*, 7(2), 15–22. <https://doi.org/10.33751/jf.v7i2.772>
- Shukla, S. K., Sharma, A. K., Gupta, V., & Yashavardhan, M. H. (2019). Pharmacological control of inflammation in wound healing. *Journal of Tissue Viability*, 28(4), 218–222. <https://doi.org/10.1016/j.jtv.2019.09.002>
- Situmeang, B., Nuraeni, W., Malik Ibrahim, A., & Saronom Silaban, dan. (2016). Analysis of secondary metabolite compounds from leaves extract kesambi (*Schleichera oleosa*) and antioxidant activity test. *Jurnal Pendidikan Kimia*, 8(3), 164–168. <https://doi.org/10.24114/jpkim.v8i3.4479>
- Rahim, F., Elmitra, E., & Abdillah, F. M. (2022). Formulasi Sediaan Bedak Tabur Dari Ekstrak Terpurifikasi Buah Tomat. *Prosiding Seminar Kesehatan Perintis E*, 5(2), 26–34.
- Sun, Y., Liu, Z., & Wang, J. (2011). Ultrasound-assisted extraction of five isoflavones from Iris tectorum Maxim. *Separation and Purification Technology*, 78(1), 49–54. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2011.01.017> Get rights and content
- Suratmi, S., & Haryanto, S. (2021). Teknik Isolasi Produk Ekstraseluler Dan Intraseluler Dari Bakteri *Vibrio harveyi*. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 19(1), 61. <https://doi.org/10.15578/blta.19.1.2021.61-65>
- Wahyudi, L. I. (2023). Optimasi Formula Sediaan Gel Ekstrak Metanol Herba Ashitaba (*Angelica Keiskei*) Dengan Metode Simplex Lattice Design. *Skripsi*. Universitas Mataram, Mataram.
- Wijaya, A., & Noviana. (2022). Penetapan Kadar Air Simplisia Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) Berdasarkan Perbedaan Metode Pengeringan. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 4(2), 185–195. <https://doi.org/10.33759/jrki.v4i2.246>
- Wirasisya, D. G., Hajrin, W., & Muliasari, H. (2018). Aktivitas Antibakteri Ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap *Streptococcus mutans*. *Unram Medical Journal*, 7(2), 16–19. <https://doi.org/10.29303/jku.v7i2.180>
- Zhang, Y., Lee, P., Liang, S., Zhou, Z., Wu, X., Yang, F., & Liang, H. (2015). Structural Basis of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug Diclofenac Binding to Human Serum Albumin. *Chemical Biology and Drug Design*, 86(5), 1178–1184. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12583>