

## Uji Aktivitas Antiinflamasi Teh Cang Salak Secara *In Vitro* Dengan Metode Stabilisasi Membran *Human Red Blood Cell*

Burhannuddin Burhannuddin\*, I Wayan Karta

Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Denpasar, Indonesia

Article info	Abstrak
<p><b>History</b> <i>Submission:</i> 25-10-2022 <i>Review:</i> 31-05-2023 <i>Accepted:</i> 23-09-2023</p> <p><b>*Email:</b> <a href="mailto:boerhannuddin@gmail.com">boerhannuddin@gmail.com</a></p> <p><b>DOI:</b> 10.33096/jffi.v10i2.903</p> <p><b>Kata Kunci:</b> <i>cang salak tea, anti-inflation test, stabilization of red blood cell membrane</i></p>	<p>Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi teh cang salak secara invitro. Teh cang salak dibuat dalam empat formulasi yaitu P1, P2, P3, dan P4. Keempat formulasi diuji antiinflamasi dengan metode stabilisasi membrane sel darah merah. Nilai stabilisasi masing-masing formulasi selanjutnya dianalisis secara statistika dengan uji <i>One-Way Anova</i> dan LSD. Formulasi teh cang salak mengandung senyawa fitokimia seperti polifenol (379,094 – 430,299 mg/100g GAE), flavonoid (5,299 – 7,959 mg/100g QE), alkaloid (24,312 – 28,472 mg/100g) dan memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai 3,996 – 6,222 ppm. Senyawa aktif polifenol dengan kadar paling tinggi terdapat pada formulasi P2, flavonoid pada P2, dan alkaloid pada P3. Aktivitas antioksidan paling tinggi terdapat pada formulasi P1 yang memiliki nilai PPM paling rendah pada uji IC<sub>50</sub>. Persentase stabilisasi pada berbagai formulasi teh cang salak memiliki perbedaan bermakna dengan nilai tertinggi pada formulasi P1 (112,6 %), diikuti dengan formulasi P2 (102 %), P3 (100,2 %), dan P4 (99,7 %) (<math>P \leq 0.05</math>). Berdasarkan hasil uji LSD teh cang salak formulasi P1, P2, dan P3 berbeda signifikan dengan kontrol positif (<math>P \leq 0.05</math>). Sedangkan formulasi P4 tidak berbeda secara signifikan dengan kontrol positif (<math>P \geq 0.05</math>). Teh cang salak formulasi P1, P2, P3, dan P4 mampu menstabilkan membran sel darah merah yang menunjukkan adanya aktivitas antiinflamasi yang kuat</p>
<p><b>Keywords:</b> <i>cang salak tea, anti-inflation test, stabilization of red blood cell membrane</i></p>	<p><b>Abstract</b> <i>This study aims to determine the anti-inflammatory activity of cang salak tea (CST) in vitro. CST was made in four formulations namely P1, P2, P3, and P4. The four formulations were tested for anti-inflammation by stabilizing the red blood cell membrane method. The stabilization value of each formulation was then statistically analyzed using the One-Way Anova and LSD tests. CST formulation contains phytochemical compounds such as fophenols (379.094 – 430.299 mg/100g GAE), flavonoids (5.299 – 7.959 mg/100g QE), alkaloids (24.312 – 28.472 mg/100g) and has antioxidant activity with a value of 3,996 - 6,222 ppm. Polyphenolic active compounds with the highest levels were found in formulation P2, flavonoids in P2, and alkaloids in P3. The highest antioxidant activity was found in the P1 formulation which had the lowest PPM value in the IC<sub>50</sub> test. The percentage of stabilization in various formulations of cang salak tea had significant differences with the highest score in formulation P1 (112.6%), followed by formulation P2 (102%), P3 (100.2%), and P4 (99.7%) (<math>P \leq 0.05</math>). Based on the results of the LSD test of cang salak tea, formulations P1, P2, and P3 were significantly different from the positive control (<math>P \leq 0.05</math>). While the P4 formulation was not significantly different from the positive control (<math>P \geq 0.05</math>). Cang salak tea formulations P1, P2, P3, and P4 are able to stabilize the red blood cell membrane which shows strong anti-inflammatory activity.</i></p>



## I. Pendahuluan

Inflamasi adalah suatu respon protektif normal yang ditimbulkan oleh kerusakan pada jaringan (Ramadhani & Sumiwi, 2015). Inflamasi dapat disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia perusak, atau zat-zat mikrobiologik. Inflamasi bertujuan untuk menginaktivasi atau merusak organisme yang menyerang, menghilangkan zat iritan, dan mengatur derajat perbaikan jaringan (Suryani *et al.*, 2018). Proses ini melalui serangkaian mekanisme seperti vasodilatasi, peningkatan permeabilitas vaskuler, peningkatan aliran darah, dan juga pergerakan leukosit ke tempat inflamasi untuk menetralkan kerusakan (Rahmawati *et al.*, 2017). Berbagai contoh penyakit yang berhubungan dengan inflamasi antara lain asma, rhinitis alergi, osteoarthritis, dan lain-lain (Suryani *et al.*, 2018).

Inflamasi biasanya diobati dengan menggunakan obat antiinflamasi golongan steroid (AIS) dan obat antiinflamasi golongan nonsteroid (AINS). Obat antiinflamasi golongan steroid bekerja dengan cara menghambat pelepasan prostaglandin dari sel-sel sumbernya. Pemakaian obat-obat tersebut mempunyai efek samping seperti iritasi gastrointestinal, kerusakan ginjal, diare, sakit kepala, depresi, pankreatitis dan terapi ini terkadang agresif dan tidak efektif dalam beberapa kasus. Obat antiinflamasi golongan nonsteroid merupakan obat analgetik lemah, antiflogistik, yang bekerja melalui mekanisme lain seperti inhibisi siklooksigenase (Dewi *et al.*, 2015). Obat antiinflamasi nonsteroid (AINS) terutama digunakan untuk gejala yang berhubungan dengan artritis. Artritis merupakan peradangan pada satu atau lebih persendian disertai dengan rasa sakit, kebengkakan, kekakuan, dan keterbatasan bergerak. Indikasi lain meliputi sindroma nyeri miofasial, gout, demam, dismenore, migrain, nyeri perioperatif, profilaksis stroke dan infark miokard (Soleha *et al.*, 2018).

Obat antiinflamasi steroid dan nonsteroid memiliki banyak efek samping sehingga perlu terus dilakukan pengembangan antiinflamasi yang berasal dari bahan alam, terutama pada tanaman (Ramadhani and Sumiwi, 2015). Penggunaan bahan alam atau obat tradisional dapat menjadi alternatif sebagai agen antiinflamasi dengan efek samping yang lebih rendah. Masyarakat juga dapat memilih terapi alami untuk mengontrol penyakit terkait inflamasi misalnya dengan mengonsumsi makanan fungsional tertentu. Sifat fungsional dari makanan tersebut ditentukan oleh komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya, seperti serat pangan, antioksidan, prebiotik, dan golongan fitokimia.

Salah satu makanan fungsional alami yang berpotensi digunakan sebagai agen antiinflamasi adalah teh cang salak. Teh cang salak merupakan minuman herbal hasil inovasi teh yang dibuat dari limbah kulit salak dan kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.). Hasil analisis fitokimia menunjukkan teh cang salak memiliki kandungan aktif seperti

flavonoid, tannin, alkaloid, dan terpenoid yang memiliki aktivitas antiinflamasi (Karta *et al.*, 2019). Flavonoid ditemukan melimpah di berbagai buah, sayuran, minuman (teh, kopi), kacang-kacangan, dan produk sereal. Flavonoid melalui mekanisme penghambatan signal nuclear factor-kappa B (NF $\kappa$ B) dapat memodulasi ekspresi gen proinflamasi sehingga melemahkan respons inflamasi (Choy *et al.*, 2019). Flavonoid juga memiliki efek biokimiawi, yang menghambat sejumlah enzim seperti aldose reductase, xanthine oxidase, phosphodiesterase, Ca<sup>2+</sup>-ATPase, lipoksigenase, dan cyclooxygenase. Flavonoid juga mampu meregulasi berbagai hormone seperti estrogen, androgen dan hormon tiroid. Aktivitas antiinflamasi flavonoid dapat pada fase inflamasi proliferasi dan eksudatif (Rathee *et al.*, 2009). Flavonoid, saponin dan tannin memiliki kemampuan menstabilkan membran sel darah merah sehingga dapat berperan sebagai metabolit antiinflamasi (Arifah *et al.*, 2017).

Studi tentang potensi teh cang salak sebagai makanan fungsional yang digunakan sebagai agen antiinflamasi belum banyak dilaporkan. Berdasarkan kandungan fitokimia yang dimiliki, teh cang salak berpotensi dikembangkan menjadi obat antiinflamasi untuk mengontrol berbagai penyakit terkait inflamasi di masyarakat. Aktivitas antiinflamasi teh cang salak perlu diuji untuk meningkatkan nilai guna teh cang salak sekaligus sebagai upaya menemukan obat antiinflamasi berbahan alam dengan efek samping lebih rendah dibandingkan obat antiinflamasi sintetik yang beredar di masyarakat. Dalam penelitian ini, aktivitas antiinflamasi teh cang salak akan diuji secara invitro dengan metode Stabilisasi Membran *Human Red Blood Cell*. Pada metode ini, sel darah merah digunakan sebagai system model untuk melihat interaksi sampel dengan membran. Aktivitas antiinflamasi dilihat ketika membran sel darah merah diinduksi dengan larutan hiposalin dan diinduksi dengan panas yang akan mengganggu kestabilan biomembrannya. Model uji ini relatif lebih mudah diterapkan di laboratorium untuk melihat potensi antiinflamasi suatu bahan alam secara *invitro*.

## II. Metode Penelitian

### II.1 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan antara lain gelas standar, tabung reaksi, mikropipet 200  $\mu$ L, mikropipet 1000  $\mu$ L, neraca analitik, seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis, vial, oven, sentrifugator, tabung sentrifus, autoklaf, spuit, pH meter, vortex, dan mikrotips. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain teh cang salak, suspensi sel darah merah, NaCl, dinatrium hidrogen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), natrium dihidrogen fosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), natrium diklofenak, etanol 96%, dekstrosa, natrium sitrat, asam sitrat, dan akuades.

## II.2 Pembuatan Formulasi Teh Cang Salak

Teh cang salak dibuat dengan mencelupkan 1 kemasan teh yang mengandung masing-masing 1 g serbuk kulit salak dan kayu secang ke dalam 200 ml air panas (100 °C) selama 10 menit. Teh cang salak dibuat menjadi empat formulasi yaitu P1 (teh cang salak pemakaian ke-1), P2 (teh cang salak pemakaian ke-2), P3 (teh cang salak pemakaian ke-3), dan P4 (teh cang salak pemakaian ke-4). Formulasi P1 dibuat dengan mencelupkan 1 kemasan teh ke dalam 200 ml air panas. Formulasi P2 dibuat dengan mencelupkan kemasan teh dari formulasi P1 ke dalam 200 ml air panas. Formulasi P3 dibuat dengan mencelupkan kemasan teh dari formulasi P2 ke dalam 200 ml air panas. Formulasi P4 dibuat dengan mencelupkan kemasan teh dari formulasi P3 ke dalam 200 ml air panas. Masing-masing formulasi diulang tiga kali dengan tiap ulangan terdiri dari tiga replikasi.

## II.3 Pembuatan Larutan Uji

Larutan Alsever dibuat dengan 2 gram dekstrosa, 0,8 gram natrium sitrat, 0,05 gram asam sitrat dan 0,42 gram NaCl dilarutkan dalam aquades sampai 100 mL pada suhu ruang. Dapar Fosfat pH 7,4 (0,15 M) dibuat dengan 13,35 gram dinatrium hidrogen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) dilarutkan dalam aquades sampai 500 mL (0,15 M). 4,14 gram natrium dihidrogen fosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) dilarutkan dalam aquades sampai 200 mL (0,15 M). Kemudian 80,8 mL larutan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0,15 M) dicampurkan dengan 19,2 mL larutan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0,15 M) pada suhu ruang. Isosalin dibuat dengan 2,125 gram NaCl dilarutkan dalam dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M) sampai volume 250 mL pada suhu ruang. Hiposalin dibuat dengan 0,625 gram NaCl dilarutkan dalam dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M) sampai volume 250 mL. Masing-masing larutan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C, selama 15 menit. Larutan kontrol positif dibuat dengan melarutkan 0,1 gr Natrium diklofenak ke dalam 100 mL isosalin (0,1%).

## II.4 Pembuatan Suspensi Sel Darah Merah

Darah sebanyak 10 mL lalu dimasukkan ke dalam tabung sentrifus yang telah berisi larutan alsever steril sebanyak 10 mL. Campuran darah dan larutan alsever steril tersebut kemudian disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit pada suhu 27 °C. Supernatan yang terbentuk dipisahkan menggunakan pipet steril. Endapan sel-sel darah yang tersisa kemudian dicuci dengan larutan isosalin dan disentrifugasi kembali. Proses tersebut diulang 4 kali sampai isosalin jernih. Volume sel darah diukur dan diresuspensi dengan isosalin sehingga didapatkan suspensi sel darah merah dengan konsentrasi 10% v/v.

## II.5 Uji Antiinflamasi Formulasi Teh Cang Salak

Pengukuran aktivitas antiinflamasi teh cang salak terhadap stabilisasi membran sel darah merah menggunakan empat larutan yaitu larutan uji (teh cang salak), larutan natrium diklofenak, larutan kontrol uji, dan larutan kontrol negatif. Larutan uji (4,5 mL) terdiri dari 1 mL dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M), 0,5 mL suspensi sel darah merah, 1 mL larutan teh cang salak (P1-P4) dan 2 mL hiposalin. Larutan kontrol positif terdiri dari 1 mL dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M), 0,5 mL suspensi sel darah merah, 1 mL larutan Na diklofenak dan 2 mL hiposalin. Larutan kontrol uji terdiri dari 1 mL dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M), 0,5 mL larutan isosalin sebagai pengganti suspensi sel darah merah, 1 mL larutan sampel dan 2 mL hiposalin. Larutan kontrol negatif terdiri dari 1 mL dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M), 0,5 mL suspensi sel darah merah, 1 mL larutan isosalin sebagai pengganti larutan sampel dan 2 mL hiposalin. Setiap larutan di atas kemudian diinkubasi pada 37 °C selama 30 menit dan disentrifugasi pada 5000 rpm selama 10 menit. Cairan supernatan yang didapat diambil dan kandungan hemoglobinnnya diperhitungkan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 560 nm. Stabilitas membran sel darah merah dapat dihitung dengan rumus pada formula 1.

$$\begin{aligned} & \% \text{ stabilitas membran:} \\ & = 100 - \left\{ \frac{\text{abs sampel uji} - \text{abs larutan kontrol}}{\text{abs larutan kontrol negatif}} \times 100 \% \right\} \end{aligned} \quad (1)$$

## III. Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini, teh cang salak dibuat dalam berbagai formulasi kemudian dilakukan uji fitokimia, uji aktivitas antioksidan, dan uji antiinflamasi. Teh cang salak pada berbagai formulasi mengandung polifenol, flavonoid, dan alkaloid dengan kadar yang bervariasi (Tabel 1).

**Tabel 1.** Hasil uji fitokimia dan aktivitas antioksidan formulasi teh cang salak

Formulasi	Polifenol (mg/100g GAE)	Flavonoid (mg/100g QE)	Alkaloid (mg/100 g)	IC 50 PPM
P1	399.640	7.477	24.312	3.966
P2	430.290	7.959	24.668	5.225
P3	379.094	5.365	28.472	5.037
P4	420.821	5.229	25.129	6.222

Kadar polifenol pada berbagai formulasi teh cang salak berkisar antara 379.094 - 430.299 mg/100g GAE. Kadar flavonoid berkisar antara 5.299 - 7.959 mg/100g QE. Sedangkan kadar alkaloid berkisar antara 24.312 - 28.472 mg/100g. Kadar polifenol dan flavonoid paling tinggi terdapat pada formulasi teh cang salak P2 dan kadar alkaloid tertinggi pada formulasi teh cang salak P3. Kandungan polifenol, flavonoid, dan alkaloid teh cang salak pada berbagai formulasi menunjukkan potensinya sebagai minuman herbal yang baik untuk kesehatan. Bahan-bahan aktif tersebut di dalam tubuh dapat berperan sebagai antioksidan dan antiinflamasi.

Polifenol merupakan bahan aktif yang berperan utama pada mekanisme antiinflamasi dengan menggunakan berbagai komponen yang terlibat dalam respon inflamasi sebagai target kerja. Polifenol meregulasi system imun dengan cara menghambat sintesis dan ekspresi gen sitokin proinflamasi. Senyawa aktif ini memberikan efek yang baik untuk kesehatan pada berbagai penyakit inflamasi kronis. Polifenol pada berbagai ekstrak tanaman bermanfaat dalam pencegahan dan perkembangan penyakit kronis terkait inflamasi seperti seperti diabetes, obesitas, neurodegenerasi, kanker, dan penyakit kardiovaskular (Yahfoufi et al., 2018). Polifenol memodulasi jalur pensinyalan inflamasi melalui mekanisme berbasis antioksidan. Polifenol dapat mengurangi stres oksidatif yang akan menghambat transduksi sinyal untuk produksi mediator pro-inflamasi (Singh et al., 2020). Polifenol memiliki efek penting dalam melindungi tubuh terhadap faktor eksternal dan membersihkan reaktif oksigen spesies (ROS) yang terjadi sebagai akibat dari beberapa penyakit. Polifenol melindungi tubuh dari penyakit dan menghentikan perkembangannya dengan mekanisme tertentu (Güneş Bayir, Aksoy and Koçyiğit, 2019)

Bahan aktif lain yang teridentifikasi pada formulasi teh cang salak adalah flavonoid yang dapat berperan sebagai agen antiinflamasi. Flavonoid merupakan senyawa bioaktif polifenol yang banyak ditemukan di berbagai buah, sayuran, minuman (teh, kopi), kacang-kacangan, dan produk sereal. Flavonoid bertindak sebagai inhibitor NFκB, yang memodulasi ekspresi gen pro-inflamasi sehingga menurunkan respon inflamasi yang menjadi penyebab utama berbagai penyakit kardiovaskular (Choy et al., 2019). Sebagai agen antiinflamasi, flavonoid bekerja dengan mengurangi

produksi reaktif oksigen spesies (ROS) dan melakukan down-regulation pada beberapa mediator inflamasi seperti menghambat jalur kunci pensinyalan *nuclear factor-kappa B* (NF-κB); mitogen-activated protein kinase (MAPK) dan signal transducers and activators of transcription (STAT) (Ginwala et al., 2019). Flavonoid juga memiliki efek biokimia, yang menghambat sejumlah enzim seperti *aldose reductase*, *xanthine oxidase*, *phosphodiesterase*,  $Ca^{2+}$ -ATPase, *lipoxigenase*, *cyclooxygenase*, dll. Flavonoid dapat merugulasi produksi berbagai hormon seperti estrogen, androgen dan hormon tiroid. Aktivitas anti-inflamasi dari flavonoid dapat ditemukan pada kedua fase inflamasi, yaitu fase proliferasif dan eksudatif (Ratehe et al., 2012)

Selain polifenol dan flavonoids, senyawa aktif lain yang terdapat pada formulasi teh cang salak adalah alkaloid. Alkaloid adalah golongan senyawa kimia yang biasanya bersifat basa dan memiliki setidaknya satu atom nitrogen dalam cincin heterosiklik. Alkaloid memiliki berbagai aktivitas biologis termasuk antimalaria, antiasma, antikanker, antihipertensi, antispasmodik, antiaritmia, analgesik, antibakteri, dan efek antidiabetes, serta memiliki efek stimulan pada SSP, relaksan otot, dan sifat vasodilatasi (Ti et al., 2021). Alkaloid memiliki efek antioksidan dan antiinflamasi yang sangat baik. Hasil studi melaporkan senyawa aktif ini dapat mengurangi kerusakan dan peradangan kolon pada Inflammatory bowel disease (IBD). Peran alkaloid dalam terapi IBD dapat melalui berbagai mekanisme seperti meningkatkan status oksidatif dan proinflamasi kolon, mempertahankan struktur epitel dan memodulasi komposisi mikrobiota usus (Peng et al., 2019). Alkaloid juga dilaporkan memiliki efek terapeutik yang potensial terhadap beberapa penyakit NDDs seperti Alzheimer (AD), Huntington (HD), Parkinson (PD), Epilepsi, Skizofrenia, dan stroke. Alkaloid dapat memperbaiki patofisiologi penyakit-penyakit tersebut karena dapat berfungsi sebagai reseptor dari adenosin, sebagai antioksidan dan anti-amiloid, sebagai inhibitor MAO, asetilkolinesterase, dan *butyrylcholinesterase* (Hussain et al., 2018).

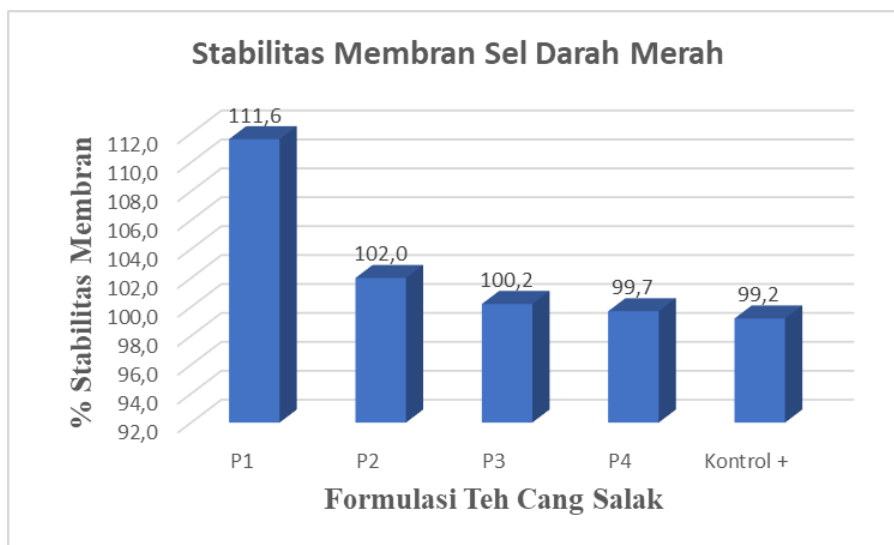
Pada penelitian ini, analisis fitokimia bahan aktif pada formulasi teh cang salak dilakukan secara kuantitatif dengan menghitung kadar polifenol, flavonoid, dan alkaloids. Analisa secara kualitatif pada kandungan fitokimia teh cang salak telah

dilaporkan pada studi sebelumnya oleh (Karta, Iswari and Susila, 2019). Formulasi teh cang salak dilaporkan mengandung berbagai bahan bioaktif seperti flavonoid, tannin, alkaloid, terpenoid dan persenyawaan fenol. Kandungan bahan-bahan aktif tersebut menyebabkan teh cang salak berpotensi dikembangkan sebagai minuman antioksidan yang mencegah dan mengontrol penyakit degeneratif (Karta, Iswari and Susila, 2019).

Penentuan aktivitas antioksidan teh cang salak pada berbagai formulasi dilakukan dengan uji IC<sub>50</sub>. IC<sub>50</sub> merupakan uji yang menggambarkan konsentrasi yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebanyak 50 %. Semakin kecil IC<sub>50</sub> menandakan semakin besar aktivitas antioksidan bahan aktif yang terdapat pada formulasi teh cang salak. Nilai IC<sub>50</sub> teh cang salak pada berbagai formulasi berkisar antara 3,996 – 6,222 ppm. Nilai IC<sub>50</sub> terendah terdapat pada teh cang salak formulasi P1 yang menunjukkan aktivitas antioksidan paling tinggi dibandingkan formulasi P2, P3, dan P4.

Aktivitas antiinflamasi formulasi teh cang salak pada penelitian ini diujikan pada sel darah merah dengan menghitung stabilitas membran sel setelah diberi perlakuan dengan teh cang salak. Pada uji ini, formulasi teh cang salak dicampurkan ke dalam larutan hipotonis kemudian ditambahkan dengan suspensi sel darah merah. Sel darah merah dalam larutan hipotonis selanjutnya diberi induksi panas dengan menginkubasi pada suhu 56 °C untuk memicu lisis sel. Kondisi tersebut akan menyebabkan sel darah merah lisis kemudian melepaskan hemoglobin yang dapat diukur kadarnya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 640 nm.

Teh cang salak dalam berbagai formulasi yang ditambahkan pada uji tersebut berfungsi untuk menjaga stabilitas membran sel. Aktivitas antiinflamasi dari teh cang salak dilihat dari kemampuannya mempertahankan stabilitas membran sel darah merah. Hasil uji antiinflamasi teh cang salak pada berbagai formulasi menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang tinggi (Gambar 1).



**Gambar 1.** Rata-rata persentase stabilitas membran sel darah merah

Berdasarkan Gambar 1 di atas, pemberian teh cang salak mampu menjaga stabilitas membran sel darah merah. Aktivitas antiinflamasi tertinggi ditemukan pada teh cang salak formulasi P1 dengan persentase stabilitas membran sel darah merah mencapai 112,6 %, diikuti dengan formulasi P2 (102 %), P3 (100, 2 %), dan P4 (99,7 %). Teh cang salak formasi P1 memiliki kepekatan paling tinggi diantara formulasi lainnya dalam volume yang sama (200 ml). Bahan aktif yang terdapat pada formulasi ini bekerja secara maksimal dalam menjaga stabilitas membran sel sehingga tidak ada sel darah merah yang mengalami lisis. Bahan aktif teh cang salak berdifusi ke dalam membran sel darah merah dan bekerja mempertahankan stabilitas membran yang menunjukkan fungsinya sebagai agen antiinflamasi. Difusi bahan aktif tersebut

menyebabkan absorbansi larutan setelah disentrifugasi menjadi lebih rendah dibandingkan dengan kontrol larutan uji.

Berdasarkan analisis statistika menggunakan *One-way anova*, terdapat perbedaan bermakna nilai stabilitas membran sel darah merah pada berbagai formulasi teh cang salak. Teh cang salak formulasi P1 memiliki persentase stabilitas membran sel yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan formulasi P2, P3, P4, dan kontrol positif ( $P \leq 0.05$ ). Perbedaan nilai stabilitas membran sel yang tidak signifikan terdapat pada formulasi teh cang salak P4 dengan kontrol positif ( $P \geq 0.05$ ). Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah natrium diklofenak, merupakan obat golongan nonsteroid yang digunakan sebagai pereda peradangan. Pada penelitian ini, stabilitas membran sel darah merah

teh cang salak formulasi P1, P2, dan P3 secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol positif. Sedangkan teh cang salak formulasi P4 memiliki stabilitas membran sel yang tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif. Formulasi P4 merupakan teh cang salak dengan kepekatan paling rendah dibandingkan formulasi lainnya. Hasil uji ini mengindikasikan bahwa teh cang salak pada kepekatan P4 memiliki efektivitas yang sama dengan kontrol positif dalam menjaga stabilitas membran sel darah merah.

Uji antiinflamasi teh cang salak dalam penelitian ini dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode stabilisasi membran sel darah merah. Prinsip pada uji ini adalah membran sel darah merah memiliki struktur yang sama dengan membran lisosom. Dalam kondisi fisiologi, stabilisasi pada membran lisosom penting untuk membatasi respon inflamasi dengan cara mencegah pelepasan enzim dari dalam lisosom. Neutrofil yang teraktivasi saat terjadinya inflamasi akut dan kronis akan memicu lepasnya enzim lisosom dan meningkatkan respon inflamasi (Kumar et al., 2012). Pada penelitian ini, stabilisasi membran sel darah merah diukur pada berbagai formulasi teh cang salak yang mengandung berbagai bahan antiinflamasi. Sel darah merah yang dikondisikan pada larutan hipotonik dan diinduksi dengan panas analog dengan stabilisasi membran lisosom sehingga hasil uji dapat digunakan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi dari teh cang salak

Pada kondisi hipotonis, sel darah merah akan lisis karena terjadi perpindahan pelarut melalui membran semipermeable. Larutan akan bergerak dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi melalui membran sel. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya oksidasi lipid dan protein sehingga memicu kerusakan membran sehingga terjadi hemolisis. Aktivitas antiinflamasi dapat diukur berdasarkan besar kecilnya sel darah merah yang mengalami lisis (Kumar, 2011). Pada penelitian ini, lisisnya sel darah merah ditandai dengan keberadaan hemoglobin dalam larutan yang ditentukan dengan mengukur absorbansinya pada panjang gelombang 560 nm menggunakan spektrofotometer UV-ViS. Nilai absorbansi yang rendah menunjukkan terjadinya stabilisasi membran sel darah merah akibat pemberian teh cang salak meskipun diinduksi dalam kondisi hipotonis dan panas.

Nilai absorbansi yang didapatkan selanjutnya digunakan untuk menentukan stabilitas membran sel darah merah. Nilai persentase stabilitas membran yang mendekati atau melebihi kontrol positif dapat dikatakan kuat karena memiliki aktivitas antiinflamasi yang sebanding atau lebih dari pada kontrol positif. Pada penelitian ini, nilai persentase stabilitas membran pada semua formulasi teh cang salak memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan kontrol positif. Hal ini mengindikasikan teh cang salak memiliki aktivitas antiinflamasi yang kuat.

Teh cang salak formulasi P4 memiliki nilai persentase stabilitas membran sel yang paling rendah dibandingkan formulasi lainnya namun nilainya mendekati dan tidak berbeda secara bermakna dengan kontrol positif. Oleh karena itu, formulasi teh cang salak dengan kepekatan yang paling rendah dalam penelitian ini masih efektif untuk menstabilkan membran sel darah merah yang menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang masih tinggi

#### IV. Kesimpulan

Teh cang salak memiliki aktivitas antiinflamasi secara *in vitro* yang ditunjukkan dengan kemampuan menstabilkan membran sel darah merah.

#### V. Ucapan Terima Kasih

Kami mengucapkan terimakasih kepada Poltekkes Kemenkes Denpasar yang telah mendanai penelitian ini berdasarkan surat perjanjian pelaksanaan penelitian No. DP. 02.01/ P.02/ PPK/ 4337 / 2021

#### Daftar Pustaka

- Arifah, R. N., Idiawati, N. and Wibowo, M. A. (2017) 'Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Kasar Buah Asam Paya ( *Eleiodoxa conferta* ( Griff .) Buret) Secara *in-vitro* dengan Metode Stabilisasi Membran HRBC (human Red Blood Cell)', *Jkk*, 6(1), pp. 21–24.
- Armadany, F. I. et al. (2020) 'Uji Potensi Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Bambu-Bambu ( *Polygonum pulchrum* Blume) Dengan Metode Stabilisasi Membran Sel Darah Merah Secara *In Vitro*', *Majalah Farmasetika.*, 4(Suppl 1), pp. 144–151. doi: 10.24198/mfarmasetika.v4i0.25873.
- Askandari (2015) Uji Aktivitas Anti Inflamasi Ekstrak Etanol 70% Buah Parijoto ( *Medinilla speciosa* Blume) Secara *In Vitro* Dengan Metode Stabilisasi Membran HRBC (Human Red Blood Cell), Skripsi. UIN SYARIF HIDAYATULLAH JAKARTA.
- Choy, K. W. et al. (2019) 'Flavonoids as natural anti-inflammatory agents targeting nuclear factor-kappa B (NFκB) signaling in cardiovascular diseases: A mini review', *Frontiers in Pharmacology*, 10(OCT), pp. 1–8. doi: 10.3389/fphar.2019.01295.
- Dewi, A. A. T. S., Puspawati, N. and Suarya, P. (2015) 'Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Eter Kulit Batang Tenggulun ( *Protium Javanicum* Burm) Terhadap Edema Pada Tikus Wistar Yang Diinduksi Dengan Karagenan', *Jurnal Kimia*, 9(1), pp. 13–19.
- Ginwala, R. et al. (2019) 'Potential role of flavonoids in treating chronic inflammatory diseases with a special focus on teh anti-inflammatory activity of apigenin', *Antioxidants*, 8(2), pp. 1–30. doi: 10.3390/antiox8020035.

- GÜNEŞ BAYIR, A., AKSOY, A. N. and KOÇYİĞİT, A. (2019) 'Teh Importance of Polyphenols as Functional Food in Health', *Bezmialem Science*, pp. 157–163. doi: 10.14235/bas.galenos.2018.2486.
- Hardy, R. S., Slamet, S. and Kamilla, L. (2019) 'Uji Aktivitas Anti Inflamasi Ekstrak Bawang Dayak (Eleutehrine Americana L. Merr) terhadap Stabilisasi Membran Sel Darah Merah', *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa*, 2(1), p. 30. doi: 10.30602/jlk.v2i1.324.
- Harvard Medical School (2020) Understanding acute and chronic inflammation, Harvard Health Publishing. Available at: <https://www.health.harvard.edu/staying-healthy/understanding-acute-and-chronic-inflammation>.
- Hussain, G. et al. (2018) 'Role of plant derived alkaloids and tehir mechanism in neurodegenerative disorders', *International Journal of Biological Sciences*, 14(3), pp. 341–357. doi: 10.7150/ijbs.23247.
- Institute for Quality and Efficiency in Health Care (2018) What is an inflammation? Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279298/?report=printable>.
- Karta, I. W. et al. (2018) Teh Cang Salak :Teh Dari Limbah Kulit Salak Dan Kayu Secang Yang Berpotensi Untuk Pencegahan Dan Pengobatan Penyakit Degeneratif.
- Karta, I. W., Iswari, P. A. K. and Susila, L. A. N. K. E. (2019) 'Teh Cang Salak: Teh Dari Limbah Kulit Salak Dan Kayu Secang Yang Berpotensi Untuk Pencegahan Dan Pengobatan Penyakit Degeneratif', *Meditory: Teh Journal of Medical Laboratory*, 7(1), pp. 27–36. doi: 10.33992/m.v7i1.473.
- Kumar, N. S. (2011). Evaluation of RBC Membran Stabilization and Antioxidant of Bombax ceiba in An In Vitro Methode. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(1).
- Kumar, V., Bhat, Z. A., Kumar, D., Khan, N. A., and Chashoo, I. A. (2012). Evaluation of Anti-Inflammatory Potential of Leaf Extracts of *Skimmia Anquetilia*. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(8), 627–630.
- Murningsih, T. and Fathoni, A. (2019) 'Evaluasi Aktivitas Anti-Inflamasi dan Antioksidan Secara In-Vitro, Kandungan Fenolat Dan Flavonoid Total Pada Terminalia spp.', *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), pp. 1689–1699. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.
- Peng, J. et al. (2019) 'Plant-derived alkaloids: Teh promising disease-modifying agents for inflammatory bowel disease', *Frontiers in Pharmacology*, 10(APR), pp. 1–15. doi: 10.3389/fphar.2019.00351.
- Rahmawati, D., Sugihartini, N. and Yuwono, T. (2017) 'Daya Antiinflamasi Salep Basis Larut Air Minyak Atsiri Bunga Cengkeh ( *Syzygium aromaticum* ) dengan Variasi Komposisi Enhancer Asam Oleat dan Propilen glikol', *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan kelamin*, 29(3), pp. 182–187.
- Ramadhani, N. and Sumiwi, S. A. (2015) 'Aktivitas Antiinflamasi Berbagai Tanaman Diduga Berasal Dari Flavonoid', *Farmaka*, 14(2), pp. 111–123.
- Ratehe, P. et al. (2009) 'Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: A review', *Inflammation and Allergy - Drug Targets*, 8(3), pp. 229–235. doi: 10.2174/187152809788681029.
- Ratehe, P. et al. (2012) 'Mechanism of Action of Flavonoids as Anti-inflammatory Agents: A Review', *Inflammation & Allergy - Drug Targets*, 8(3).
- Setianto, R. (2020) Studi Etnomedisine Di Suku Tengger Probolinggo – Jawa Timur Dengan Uji Stabilitas Membran Dan Aktivitas Antiinflamasi Program Studi S2 Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi. Universitas Setia Budi.
- Singh, A. et al. (2020) 'Interaction of polyphenols as antioxidant and anti-inflammatory compounds in brain–liver–gut axis', *Antioxidants*, 9(8), pp. 1–20. doi: 10.3390/antiox9080669.
- Soleha, M. et al. (2018) 'Profil Penggunaan Obat Antiinflamasi Nonstreoid di Indonesia', *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 8(2), pp. 109–117. doi: 10.22435/jki.v8i2.316.
- Subowo (2010) *Imunologi Klinik*. Edisi ke-2. Jakarta: Sagung Seto.
- Suryani, Benny, F. and Wahyuni (2018) 'Uji Efek Antiinflamasi secara In Vivo Nanopartikel Kurkumin yang Diformulasikan menggunakan Metode Reinforcement Gelasi Ionik', *Issn*, 1(1), pp. 20–24.
- Ti, H. et al. (2021) 'Progress of plant medicine derived extracts and alkaloids on modulating viral infections and inflammation', *Drug Design, Development and Tehrapy*, 15, pp. 1385–1408. doi: 10.2147/DDDT.S299120.
- Yahfoufi, N. et al. (2018) 'Teh immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols', *Nutrients*, 10(11), pp. 1–23. doi: 10.3390/nu10111618.

