 DOI : 10.35311/jmpi.v10i2.665

## Uji Antiinflamasi Daun Maja (*Aegle marmelos* L.) menggunakan Metode Penghambatan Denaturasi Protein

Rachma Malina\*, Yamin, Irvan Anwar, Sitti Raodah Nurul Jannah, Nurramadhani A. Sida, Afifatun Nafiah  
Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo

**Sitasi:** Malina, R., Yamin, Anwar, I., Jannah, S. R. N., Sida, N. A., & Nafiah, A. (2024). Uji Antiinflamasi Daun Maja (*Aegle marmelos* L.) Menggunakan Metode Penghambatan Denaturasi Protein. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 10(2), 637–645.  
<https://doi.org/10.35311/jmpi.v10i2.665>

Submitted: 22 Oktober 2024  
Accepted: 12 Desember 2024  
Published: 21 Desember 2024

\*Penulis Korespondensi:  
Rachma Malina  
Email: rachmamalina@uho.ac.id



Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

### ABSTRAK

Tubuh merespon cedera atau kerusakan jaringan dengan inflamasi, yang menyebabkan berbagai sensasi seperti rasa sakit, kemerahan, pembengkakan, panas, dan penurunan fungsi di daerah yang terluka. Daun maja (*Aegle marmelos* L.) secara empiris telah digunakan sebagai obat radang. Diketahui daun maja memiliki kemampuan antioksidan yang sangat kuat sehingga berpotensi sebagai antiinflamasi yang kuat. Tujuan penelitian untuk mengidentifikasi potensi antiinflamasi serta menentukan kadar total fenolik dan flavonoid daun maja. Uji aktivitas antiinflamasi dilakukan menggunakan metode penghambatan denaturasi protein, dengan mengukur persentase penghambatan denaturasi albumin serum pada konsentrasi tertentu. Analisis kadar fenolik total dilakukan menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*, dengan asam galat sebagai standar, sementara kadar flavonoid total dianalisis menggunakan metode kompleksasi aluminium, menggunakan kuersetin sebagai standar. Pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang tertentu. Hasil skrining fitokimia daun maja mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid. Kadar fenolik dan flavonoid total tertinggi berturut-turut yaitu fraksi etil asetat sebanyak 374.17 mgEAG/g dan 394.07 mgEK/g sampel. Hasil uji aktivitas antiinflamasi menggunakan metode penghambatan denaturasi protein *Bovin Serum Albumin* (BSA) diperoleh nilai  $IC_{50}$  pada ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air berturut-turut adalah 32.088  $\mu\text{g/mL}$ , 18.361  $\mu\text{g/mL}$ , 14.243  $\mu\text{g/mL}$ , dan 38.894  $\mu\text{g/mL}$ . Pengujian antiinflamasi menemukan bahwa fraksi etil asetat memiliki nilai  $IC_{50}$  tertinggi yang menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun *Aegle marmelos* L. memiliki potensi aktivitas antiinflamasi yang baik dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi lainnya. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa daun *Aegle marmelos* L. memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi.

**Kata Kunci :** Daun Maja, Ekstrak, Antiinflamasi, Denaturasi Protein, BSA

### ABSTRACT

The body responds to injury or tissue damage with inflammation, which causes various sensations such as pain, redness, swelling, heat, and reduced function in the affected area. Maja leaves (*Aegle marmelos* L.) have been empirically used as an anti-inflammatory agent. It is known that maja leaves possess strong antioxidant properties, making them a potential source of powerful anti-inflammatory agents. This study aimed to identify the anti-inflammatory potential and determine the total phenolic and flavonoid content of maja leaves. The anti-inflammatory activity test was conducted using the protein denaturation inhibition method by measuring the percentage of inhibition of serum albumin denaturation at specific concentrations. Total phenolic content was analyzed using the *Folin-Ciocalteu* method with gallic acid as the standard, while total flavonoid content was determined using the aluminum complexation method with quercetin as the standard. Measurements were performed using a UV-Vis spectrophotometer at specific wavelengths. Phytochemical screening of maja leaves revealed the presence of alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and terpenoids. The highest phenolic and flavonoid content was found in the ethyl acetate fraction, amounting to 374.17 mgGAE/g and 394.07 mgQE/g of sample, respectively. The anti-inflammatory activity test using the Bovine Serum Albumin (BSA) protein denaturation inhibition method showed  $IC_{50}$  values of 32.088  $\mu\text{g/mL}$  for methanol extract, 18.361  $\mu\text{g/mL}$  for n-hexane fraction, 14.243  $\mu\text{g/mL}$  for ethyl acetate fraction, and 38.894  $\mu\text{g/mL}$  for water fraction. The anti-inflammatory test results demonstrated that the ethyl acetate fraction exhibited the highest  $IC_{50}$  value, indicating that the ethyl acetate fraction of *Aegle marmelos* L. leaves has significant anti-inflammatory potential compared to other extracts and fractions. These findings confirm that *Aegle marmelos* L. leaves possess anti-inflammatory activity.

**Keywords :** Maja Leaves, Extract, Anti-inflammatory, Protein Denaturation, BSA

## PENDAHULUAN

Inflamasi adalah reaksi terhadap berbagai faktor yang menyebabkan kerusakan sel dan jaringan tubuh. Sebagai respon terhadap peradangan, tubuh menghasilkan berbagai reaksi seperti rasa sakit, kemerahan, pembengkakan, panas, dan kehilangan fungsi di area yang terluka. Sejumlah protein biologis kehilangan fungsinya ketika mengalami denaturasi akibat peradangan. Ada berbagai obat yang dapat digunakan untuk mengendalikan dan menekan krisis inflamasi yaitu obat golongan steroid dan obat nonsteroid merupakan contoh obat yang sering digunakan (Ghasemian *et al.*, 2016).

Obat antiinflamasi non-steroid sering diresepkan karena obat ini bekerja dengan memblokir sintesis prostaglandin melalui penghambatan enzim siklooksigenase (COX-1 dan COX-2). Efek samping gastrointestinal seperti dispepsia, pendarahan, dan perforasi gastrointestinal adalah beberapa efek samping dari penggunaan obat antiinflamasi non-steroid (Wongrakpanich *et al.*, 2018).

Proses inflamasi yang tidak terkendali dapat menyebabkan berbagai penyakit. Sehingga, pengembangan agen antiinflamasi alami dengan potensi efek samping minimal menjadi prioritas penelitian farmasi saat ini. Banyak peneliti melakukan pengembangan terhadap aktivitas antiinflamasi yang berasal dari bahan alam terutama dari tanaman. Salah satu tanaman yang telah banyak diteliti memiliki potensi pengobatan adalah maja (*Aegle marmelos* L.). Daun maja (*Aegle marmelos* L.) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi tumbuh di negara tropis kawasan Asia Tenggara khususnya Indonesia (Rismayani, 2013).

Pemanfaatan tanaman maja telah banyak dilakukan oleh masyarakat salah satunya sebagai pengobatan dengan pengolahan secara tradisional. Secara empiris tanaman maja digunakan untuk sakit tenggorokan, tonsilitis, bronchitis (Puspa Sari & Priastini Susilowati, 2019), pengobatan tekanan darah tinggi, batuk (Wati *et al.*, 2022), demam dan pengobatan diabetes (Megawati, 2020).

Tanaman maja dilaporkan memiliki banyak metabolit sekunder yang berpotensi sebagai pengobatan. Semua bagian pohon maja, yaitu batang, kulit kayu, akar, buah dan terutama daun secara medis banyak digunakan sebagai obat (Hussain & Hiremath, 2020) karena telah diteliti mengandung senyawa kimia seperti minyak atsiri, flavonoid, sterol, tannin, triterpenoid, dan kumarin.

Tanaman maja diketahui beraktivitas sebagai antioksidan tinggi, yang dibuktikan dengan nilai  $IC_{50}$  <50 mg/ml, yaitu 0,107 mg/ml (Wilujeng *et al.*, 2020).

Aktivitas antioksidan yang baik berpotensi memiliki kemampuan antiinflamasi yang baik pula. Hal ini dikarenakan antioksidan membantu dalam pencegahan respon inflamasi akibat adanya cedera jaringan, sehingga perlu ditinjau lebih lanjut mengenai aktivitas antiinflamasinya. Metode uji antiinflamasi secara *in-vitro* yang selalu digunakan adalah penghambatan denaturasi protein (*Bovine Serum Albumine*/BSA), karena agen ini dapat menghambat denaturasi protein yang digunakan sebagai obat antiinflamasi (Aditya *et al.*, 2015). Dari penjelasan tersebut, maka perlu dilakukan uji aktivitas antiinflamasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan metode penghambatan denaturasi protein pada daun maja.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini termasuk batang pengaduk (Pyrex<sup>®</sup>), gelas kimia (Pyrex<sup>®</sup>), gelas ukur (Pyrex<sup>®</sup>), corong pisah (Pyrex<sup>®</sup>), pipet tetes, pipet ukur (Pyrex<sup>®</sup>), cawan porselen, labu takar (Pyrex<sup>®</sup>), tabung reaksi (Pyrex<sup>®</sup>), sendok tanduk, rak tabung reaksi, toples kaca, spatula, mikropipet (Eppendorf<sup>®</sup>), timbangan analitik (Precisa XB 220At<sup>®</sup>), Rotary Vacuum Evaporator, pH meter (HANNA Instruments<sup>®</sup>), vortex, blender (Philips<sup>®</sup>), dan Spektrofotometer UV-Vis.

### Bahan

Dalam penelitian ini digunakan serbuk simplisia daun maja (*Aegle marmelos* L.), metanol teknis (Emsure<sup>®</sup>), aquades (Waterone<sup>®</sup>), n-heksana (Emsure<sup>®</sup>), etil asetat (Emsure<sup>®</sup>), kertas saring, asam klorida (Emsure<sup>®</sup>), pereaksi mayer, serbuk magnesium (Alpha Chemika<sup>®</sup>), asam sulfat (Emsure<sup>®</sup>), natrium klorida (Emsure<sup>®</sup>), basa tris, asam asetat glasial (Emsure<sup>®</sup>), Albumin serum bovin (BSA) (Sigma<sup>®</sup>), kuersetin (Sigma<sup>®</sup>), asam galat (Gallic Acid Merck<sup>®</sup>), natrium karbonat (Pudak<sup>®</sup>), dan aluminium klorida (Emsure<sup>®</sup>).

### Penyiapan Ekstrak dan Fraksi Daun *Aegle marmelos* L.

Sampel daun maja (*Aegle marmelos* L.) diperoleh dari Kel. Watulondo, Kec. Puuwatu, Kota Kendari, Provinsi Sulawesi Tenggara. Sampel yang diperoleh dideterminasi di Laboratorium Pengembangan Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Halu Oleo, dengan kunci determinasi sebagai berikut 1a-2a-3b-4a-5a-6a-7b-8b-9b-10a. Hasil determinasi yang dilakukan menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah benar daun maja (*Aegle marmelos* L.).

Sampel yang dikumpulkan, disortasi basah dan dikeringkan dengan sinar matahari. Setelah kering, disortasi kering dan dihaluskan hingga menjadi serbuk menggunakan blender. Serbuk daun *Aegle marmelos* L. diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan metanol selama 3 hari. Kemudian filtrat yang didapatkan dipekatkan pada suhu 30-40°C menggunakan *rotary evaporator* sehingga menghasilkan ekstrak kental (Minarti et al., 2021). Ekstrak kental yang diperoleh dihitung berat rendemennya.

Ekstrak metanol daun *Aegle marmelos* L. difraksinasi dengan metode partisi. Diambil 60 g ekstrak diencerkan dengan akuades 1 L. Dalam corong pisah, 100 mL sampel cairan ekstrak dimasukkan dan ditambahkan 100 mL n-heksana. Kemudian, gojok selama 15 menit. Setelah digojok, Sampel tersebut didiamkan hingga membentuk dua lapisan. Fraksinasi ulang dilakukan dengan 100 mL air sisa dan 200 mL pelarut n-heksana dan diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* (50°C) sehingga didapatkan fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat. Sedangkan untuk fraksi air dipekatkan menggunakan oven (40°C) (Mistriyani et al., 2018).

### Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Daun *Aegle marmelos* L.

#### 1. Alkaloid

Ekstrak dan fraksi daun *Aegle marmelos* L. sebanyak 2 g dalam tabung dan diberi 5 ml HCl 2 N dan pereaksi dragendroff. Jika terbentuk endapan jingga atau endapan coklat menunjukkan positif alkaloid (Muthmainnah, 2017).

#### 2. Flavonoid

1 g ekstrak dan fraksi daun *Aegle marmelos* L. diberi air panas, dididihkan 5 menit dan disaring. Dalam filtrat 5 mL serbuk Mg, 0,2 g dan HCl pekat 2 mL ditambahkan, dan dikocok. Jika terjadi perubahan warna merah, kuning, atau jingga menunjukkan positif flavonoid (Wahid & Safwan, 2020).

#### 3. Tanin

Ekstrak dan fraksi daun *Aegle marmelos* L. dalam tabung reaksi, diberi air panas 10 mL, dan ditambahkan FeCl<sub>3</sub> 3 tetes ke dalam filtratnya. Perubahan warna menjadi hijau kebiruan (hijau hitam) menunjukkan adanya tanin katekol dan tannin pirogallol (Muthmainnah, 2017).

#### 4. Steroid dan Terpenoid

1 g ekstrak dan fraksi daun *Aegle marmelos* L. ditambahkan 10 tetes CH<sub>3</sub>COOH dan 2 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Larutan dikocok dan dibiarkan. Jika mengandung steroid, akan berwarna biru atau hijau, dan jika mengandung triterpenoid, akan berwarna merah atau ungu (Wahid & Safwan, 2020).

#### 5. Saponin

Ekstrak dan fraksi daun *Aegle marmelos* L. dalam tabung reaksi, diberi 10 mL air panas dan didinginkan. Kemudian dikocok dengan selama 10 detik, lalu ditambahkan 1 tetes HCl 2 N. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil dengan tinggi 1-10 cm yang bertahan selama minimal 10 menit. (Wahid & Safwan, 2020).

### Penentuan Kadar Fenolik Ekstrak dan Fraksi Daun *Aegle marmelos* L.

Penentuan kadar fenolik dari daun *Aegle marmelos* L. dilakukan sebagai berikut:

#### 1. Pembuatan Larutan Standar Asam Galat

Larutan standar asam galat 1000 ppm dibuat dengan menimbang 10 mg asam galat dilarutkan dengan metanol p.a sebanyak 10 mL. Dibuat seri pengenceran 10, 20, 30, 40, 50, 60 dan 70 ppm. Masing-masing dari seri konsentrasi tersebut diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 0,4 mL reagen *Folin Ciocalteau*, digojok hingga homogen dan dibiarkan 4-8 menit. Larutan ditambahkan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7% sebanyak 4 mL dikocok hingga homogen. Dicukupkan dengan akuades hingga 10 mL (A. Ahmad et al., 2015).

#### 2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum dan Operating time

Larutan asam galat 1000 ppm diambil sebanyak 0,5 mL, ditambahkan reagen *Folin Ciocalteau* sebanyak 2 mL, kemudian ditambahkan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7% sebanyak 4 mL. Dibaca absorbansi pada panjang gelombang 600-800 nm dengan tiga kali replikasi (Sari et al., 2018).

Pengukuran operating time, larutan asam galat 1000 ppm diambil sebanyak 0,5 mL, ditambahkan reagen *Folin Ciocalteau* sebanyak 2 mL, kemudian ditambahkan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7% sebanyak 4 mL. Dibaca absorbansi larutan dengan interval waktu pada menit ke 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 dengan spektrofotometer 639isible pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh.

#### 3. Penentuan Kurva Baku Asam Galat

Larutan baku asam galat 1000 ppm dibuat dengan seri konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Masing-masing dari seri konsentrasi tersebut diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 0,4 mL reagen *Folin Ciocalteau* digojok hingga homogen dan dibiarkan 4-8 menit. Larutan ditambahkan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7% sebanyak 4 mL dikocok hingga homogen. Dicukupkan dengan aquades hingga 10 mL. Kemudian, dilakukan pengukuran pada panjang gelombang maksimum dan *operating time* yang diperoleh dan dibuatkan kurva kalibrasi antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi.

#### 4. Pengukuran Kadar Fenolik

Penetapan kadar fenolik total ekstrak dan fraksi daun maja dilakukan dengan cara menimbang 10 mg ekstrak total dan fraksi, dilarutkan menggunakan metanol p.a dan dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL ditambahkan metanol p.a hingga tanda tera. Selanjutnya dibuat beberapa konsentrasi dari larutan asam galat 1000 ppm, kemudian diberi reagen *Folin Ciocalteu* 0,4 mL, dan larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7% 4 mL serta dicukupkan dengan aquades sampai 10 mL. Seluruh seri konsentrasi diukur absorbansinya sebanyak 3x dan dinyatakan dalam ekuivalen asam galat (EAG) untuk kadar fenolik yang didapatkan (A. R. Ahmad et al., 2015), yang dihitung dengan persamaan berikut ini (R. R. A. A. K. Wardhani et al., 2018):

$$\text{Rumus kadar fenol total} = \frac{C \times V \times FP}{m}$$

Keterangan:

C : Konsentrasi fenolik (nilai x)

V : Volume sampel (mL)

Fp : Faktor pengenceran

m : Berat sampel (g)

#### Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi Daun *Aegle marmelos* L.

Pengukuran kadar flavonoid dari daun *Aegle marmelos* L. dilakukan sebagai berikut:

##### 1. Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

Larutan standar kuersetin 1000 ppm dibuat dengan menimbang 10 mg kuersetin lalu dilarutkan dengan metanol p.a sebanyak 10 mL. Kemudian dibuat dengan seri konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm.

Dari masing-masing konsentrasi larutan standar kuersetin ditambahkan 3 mL metanol p.a, 0,2 mL  $\text{AlCl}_3$  10%, 0,2 mL kalium asetat 1 M dan dicukupkan dengan akuades hingga 10 mL. setelah itu diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Sukmawati et al., 2017).

##### 2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum dan operating time

Larutan kuersetin 1000 ppm diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan 1 mL  $\text{AlCl}_3$  10% dan 8 mL kalium asetat 1 M. Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan running larutan kuersetin pada range panjang gelombang 400-600 nm.

Penentuan operating time dilakukan dengan mengambil larutan kuersetin 1000 ppm 1 mL, ditambahkan 1 mL  $\text{AlCl}_3$  10% dan 8 mL kalium asetat 1 M. larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh

dengan interval waktu pada menit ke 10, 20, 30, 40, 50 dan 60.

##### 3. Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Larutan baku kuersetin 1000 ppm dibuat dengan masing-masing seri konsentrasi larutan standar kuersetin (20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm) diambil 1 mL ditambahkan 3 mL metanol, 0,2 mL  $\text{AlCl}_3$  10%, 0,2 mL kalium asetat 1 M, dan dicukupkan dengan aquades sampai 10 mL dan diinkubasi selama *operating time*.

Seluruh seri konsentrasi larutan baku dilakukan pengukuran pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Dibuat kurva kalibrasi hubungan antara kuersetin dengan absorbansi.

##### 4. Pengukuran Kadar Flavonoid Total

Pengukuran kadar flavonoid total dilakukan dengan melarutkan 10 mg ekstrak dan fraksi dalam 10 ml metanol (teknis). Diambil 1 mL dan ditambah metanol 3 mL,  $\text{AlCl}_3$  10% dan kalium asetat 0,2 mL, ditambah akuades sampai 10 mL.

Selanjutnya pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis sesuai dengan panjang gelombang maksimum yang didapatkan. Larutan sampel dibuat dalam tiga kali replikasi (A. R. Ahmad et al., 2015). Kadar flavonoid total didapatkan dari absorbansi sampel lalu dihitung total flavonoidnya.

#### Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak dan Fraksi Daun *Aegle marmelos* L.

Pengujian antiinflamasi dari daun *Aegle marmelos* L. dilakukan sebagai berikut:

##### 1. Pembuatan Tris Buffer Saline (TBS)

Sebanyak 435 mg NaCl dilarutkan dalam 200 ml aquadest, ditambahkan 0,605 mg Tris Base dicukupkan dengan air sampai 400 ml. Selanjutnya pH diatur dengan penambahan asam asetat glasial hingga pH 6,2-6,5, kemudian dicukupkan dengan air sampai 500 mL (Farida et al., 2018).

##### 2. Pembuatan 0,2% BSA dalam TBS

Sebanyak 0,2 g *Bovine Serum Albumin* (BSA) dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan dengan larutan TBS hingga volume 100 mL (Farida et al., 2018).

##### 3. Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Sebanyak 25 mg Natrium Diklofenak dilarutkan dengan metanol hingga larut lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL dan dicukupkan dengan metanol sampai 250 mL, sehingga didapatkan larutan induk 100 ppm. Dari larutan induk 100 ppm selanjutnya dibuat seri konsentrasi larutan kontrol positif dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, dan 70 ppm (Novika et al., 2021).

4. Pembuatan Larutan Uji (Ekstrak dan fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi tidak larut etil asetat)

Sebanyak 25 mg sampel daun maja dilarutkan dengan metanol p.a hingga larut lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL dan dicukupkan dengan metanol sampai 250 mL, sehingga didapatkan larutan induk 100 ppm. Dari larutan induk 100 ppm selanjutnya dibuat seri konsentrasi larutan uji dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, dan 70 ppm untuk setiap jenis sampel (Novika et al., 2021).

5. Pengujian Aktivitas Antiinflamasi

Pembuatan larutan induk 100 ppm dari 25 mg ekstrak, fraksi yang dilarutkan dengan metanol (teknis). Selanjutnya dari larutan induk setiap jenis sampel diencerkan dengan berbagai konsentrasi (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, dan 70 ppm) (Novika et al., 2021).

Sebanyak 50 µL dari setiap konsentrasi larutan pada labu ukur 5 ml ditambah larutan 0,2% BSA sampai 5 ml. Kemudian diinkubasi 30 menit (25°C), dipanaskan 5 menit (72°C), didiamkan 25 menit (23°C). Selanjutnya divortex dan diukur

absorbansinya dan diulangi tiga kali (triplo) (Novika et al., 2021). Persentase penghambatan dihitung dengan rumus berikut ini:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol negatif} - \text{Absorbansi larutan uji}}{\text{Absorbansi kontrol negatif}} \times 100\%$$

Setelah itu dibuat plot pada sumbu x dan y dan diperoleh persamaan regresi linear dalam bentuk:

$$y = ax + b$$

Keterangan:

y = absorbansi

x = konsentrasi

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstrak dan Fraksi Daun *Aegle marmelos* L.

Ekstraksi yang dihasilkan dari 100gram simplisia yaitu 123gram dengan nilai rendemen 12,3%. Nilai rendemen ekstrak ini memberikan gambaran terhadap nilai kandungan aktif yang dapat diekstraksi berdasarkan pelarut dan metode yang digunakan (Mahasuari et al., 2020). Untuk hasil fraksinasi diperoleh dari 60gram sampel ekstrak kental yang diencerkan menggunakan aquades 1 L.

Tabel 1. Hasil Fraksinasi Daun *Aegle marmelos* L.

No.	Fraksi	Berat Fraksi (g)	Rendemen (%)
1	n-heksana	19	31,66
2	Etil asetat	18,3	30,5
3	Air	21,50	35,85

Berdasarkan tabel 1 hasil fraksi yang terbesar adalah fraksi air 21,50 gram dengan nilai rendemen fraksi 35,83%, sedangkan fraksi n-heksana 19 gram dengan nilai rendemen 31,66% dan fraksi etil asetat 18,3 gram dengan rendemen 30,5%. Berdasarkan nilai tersebut terlihat bahwa senyawa yang terdapat pada daun *Aegle marmelos* L. lebih banyak bersifat polar karena sifat air yang lebih polar dibandingkan pelarut etil asetat dan n-heksana.

### Kandungan Senyawa Fitokimia Daun *Aegle marmelos* L.

Identifikasi kandungan senyawa fitokimia yang terkandung dalam daun maja tercantum pada tabel 2. Pada penelitian ini, sampel yang mengandung alkaloid akan membentuk endapan merah bata, coklat, atau jingga yang merupakan hasil dari interaksi antara alkaloid dengan ion tetraiodomercurat. Hal ini dikarenakan ion merkuri sebagai ion logam berat dapat mengendapkan alkaloid yang sifatnya basa (Sulistyarini et al., 2016). Uji kualitatif alkaloid menunjukkan bahwa terdapat senyawa alkaloid pada ekstrak dan fraksi daun *Aegle marmelos* L.

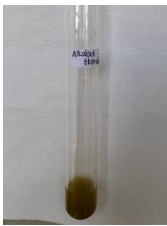

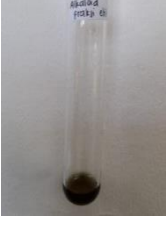

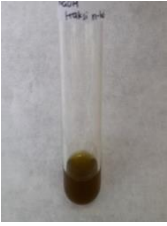



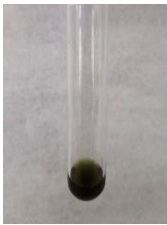



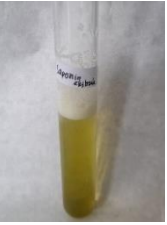







Identifikasi senyawa flavonoid menunjuk-

kan terbentuknya warna kuning kecoklatan karena terjadi konjugasi gugus aromatik yang membentuk perubahan warna dari kuning sampai kuning kecoklatan, artinya mengandung senyawa flavonoid. Hasil uji terpenoid terlihat ada perubahan warna pada sampel menjadi warna coklat, hijau kehitaman, dan ungu saat diberi asam sulfat karena terjadi reaksi oksidasi dengan melalui adanya pembentukan ikatan rangkap yang dapat terkonjugasi pada senyawa terpenoid (Sulistyarini et al., 2016).

Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa sampel mengandung senyawa terpenoid. Selain itu, sampel juga mengandung saponin yang dibuktikan dengan adanya buih permanen selama proses uji. Hal ini dikarenakan glikosida terhidrolisis menjadi glukosa yang membentuk buih dalam air (R. A. P. Wardhani & Supartono, 2015).

Uji kandungan senyawa tanin menunjukkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman yang disebabkan karena sifat senyawa yang polar (gugus OH) yang berubah warna jika ditambahkan FeCl<sub>3</sub> menjadi warna biru tua atau hijau kehitaman yang menandakan adanya senyawa tanin (Sulistyarini et al., 2016).

Tabel 2. Hasil Identifikasi Senyawa Fitokimia Daun *Aegle marmelos* L.

No.	Pengujian	Hasil				Keterangan
		Ekstrak metanol	Fraksi n-heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi air	
1	Alkaloid					Endapan jingga (Positif alkaloid)
2	Flavonoid					Berubah warna menjadi kuning kecoklatan (Positif flavonoid)
3	Terpenoid					Terbentuk warna coklat pekat (Positif Terpenoid)
4	Saponin					Terbentuk buih yang stabil (Positif Saponin)
5	Tanin					Perubahan warna hijau kehitaman (Positif Tanin)

**Kadar Fenolik Ekstrak dan Fraksi Daun *Aegle marmelos* L.**

Kadar fenolik total yang tertinggi yaitu fraksi etil asetat 374,17 mgEAG/g sampel dan terendah fraksi air 134,19 mgEAG/g sampel (Tabel 3). Hasil ini menunjukkan jenis fenolik yang paling banyak terdapat dalam daun maja bersifat semi polar.

Hal ini dikarenakan reaksi yang terjadi

antara senyawa fenolik dengan pereaksi *folin-ciocalteu* yang menghasilkan senyawa kompleks biru dalam suasana basa. Natrium bikarbonat menjadi penting untuk ditambahkan agar suasananya menjadi basa untuk menghasilkan reaksi antara reagen dan senyawa fenolik. Dalam suasana basa ini, proton dapat diisosiasi dari senyawa fenolik menjadi ion fenolat (Dewantara et al., 2021).

Tabel 3. Fenolik Total Ekstrak dan Fraksi Daun Maja

No.	Sampel	Kadar Fenolik (µg/mL)			$\bar{x} \pm SD$	Kadar Total Fenolik (mgEAG/g)
		I	II	III		
1	Fraksi etil asetat	36,954	37,434	37,863	37,417±0,454	374,17 <sup>a</sup>
2	Fraksi <i>n</i> -heksana	32,173	30,913	31,954	31,68±0,673	316,8 <sup>b</sup>
3	Ekstrak metanol	23,913	23,086	23,318	23,439±0,426	234,39 <sup>c</sup>
4	Fraksi air	13,043	13,086	13,318	13,149±0,147	134,19 <sup>d</sup>

Keterangan: Huruf yang berbeda (a, b, c, d) dibelakang angka menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar sampel dengan  $p < 0,05$

### Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi Daun *Aegle marmelos* L.

Flavonoid total daun *Aegle marmelos* L. yang tertera pada tabel 4 menunjukkan jenis flavonoid yang paling banyak terdapat dalam daun maja yang bersifat semi polar yang disebabkan oleh kompleks aluminium klorida dengan gugus keto dan gugus

hidroksi yang terbentuk (Azizah et al., 2014; Novitasari et al., 2019). Flavonoid total tertinggi yaitu pada fraksi etil asetat 394,07 mgEK/g sampel dan terendah pada fraksi air 188,04 mgEK/g sampel, yang berarti daun maja banyak mengandung senyawa flavonoid.

Tabel 4. Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi Daun Maja

No.	Sampel	Kadar Flavonoid (µg/mL)			$\bar{x} \pm SD$	Kadar Total Flavonoid (mgEK/g)
		I	II	III		
1	Fraksi etil asetat	40,575	38,941	38,705	39,407±1,018	394,07 <sup>a</sup>
2	Fraksi <i>n</i> -heksana	30,272	28,941	29,882	29,698±0,684	296,98 <sup>b</sup>
3	Ekstrak metanol	25,424	24,235	24,294	24,651±0,67	246,51 <sup>c</sup>
4	Fraksi air	19,06	18,058	19,294	18,804±0,656	188,04 <sup>d</sup>

Keterangan: <sup>a, b, c, d</sup> untuk menunjukkan perbedaan signifikan sampel

### Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak dan Fraksi Daun *Aegle marmelos* L.

Pengujian antiinflamasi dinyatakan dengan persen inhibisi terhadap protein terdenaturasi. Efektivitas ekstrak dan fraksi dalam menghambat protein denaturasi dapat diketahui dengan menghitung nilai IC<sub>50</sub>, yang merupakan konsentrasi ketika persentase penghambatan denaturasi protein mencapai nilai 50%. Jika nilai IC<sub>50</sub> rendah diartikan aktivitas antiinflamasi pada sampel semakin tinggi.

Pengukuran absorbansi ekstrak dan fraksi daun maja menggunakan spektrofotometer UV-Vis berdasarkan prinsip turbidimetri pada panjang

gelombang 660 nm untuk metode penghambatan denaturasi protein BSA, lalu ditambahkan BSA kemudian diinkubasi (25°C).

Prinsip metode spektrofotometer UV-Vis berdasarkan prinsip turbidimetri ini, mengukur potensi aktivitas antiinflamasi senyawa atau ekstrak berdasarkan kemampuannya untuk menghambat pembentukan kekeruhan (turbiditas) yang disebabkan oleh proses inflamasi. Selanjutnya divorteks dan diukur, sehingga diperoleh hasil pengukuran absorbansinya. Hasil uji aktivitas antiinflamasi pada ekstrak dan fraksi daun maja dapat dilihat pada Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Aktivitas Antiinflamasi Daun Maja

No.	Sampel	IC <sub>50</sub> (µg/mL)			$\bar{x} \pm SD$
		I	II	III	
1	Natrium diklofenak	11,707	10,612	11,369	11,229±0,560
2	Fraksi etil asetat	14,427	13,842	14,462	14,243±0,348 <sup>d</sup>
3	Fraksi <i>n</i> -heksana	18,648	17,963	18,472	18,361±0,355 <sup>c</sup>
4	Ekstrak metanol	32,058	32,048	32,16	32,088±0,061 <sup>b</sup>
5	Fraksi air	39,135	38,713	38,835	38,894±0,217 <sup>a</sup>

Keterangan: <sup>a, b, c, d</sup> untuk menunjukkan perbedaan signifikan sampel

Berdasarkan hasil pengukuran aktivitas antiinflamasi menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> yang beragam antara kontrol positif, ekstrak, dan fraksi. Hal ini memberi bukti bahwa terdapat perbedaan aktivitas antiinflamasi pada masing masing sampel. Nilai IC<sub>50</sub>

yang rendah pada sampel menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang kuat. Berdasarkan hasil tersebut yang memiliki aktivitas antiinflamasi terkuat adalah fraksi etil asetat dengan nilai IC<sub>50</sub> 14,243 µg/mL, fraksi *n*-heksana dengan nilai IC<sub>50</sub> 18,361 µg/mL, kemudian

ekstrak metanol dengan nilai  $IC_{50}$  32,088  $\mu\text{g/mL}$  dan fraksi air dengan nilai  $IC_{50}$  38,894  $\mu\text{g/mL}$ .

Tingginya nilai  $IC_{50}$  pada fraksi etil asetat dan *n*-heksan menunjukkan aktivitas yang kuat, dikarenakan fraksi etil asetat dan *n*-heksan mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang tinggi. Senyawa fenolik dan flavonoid diketahui memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi. Hal ini membuktikan struktur senyawa yang paling berperan dalam menghambat protein pada BSA adalah struktur molekul golongan senyawa semi polar. Berdasarkan hasil tersebut, daun maja memiliki aktivitas antiinflamasi yang tergolong sangat kuat.

## KESIMPULAN

Fraksi etil asetat daun *Aegle marmelos* L. berperan dalam menghambat aktivitas denaturasi protein yang terlihat dari presentasi inhibisi >14% dengan nilai  $IC_{50}$  14,243  $\mu\text{g/mL}$  dibandingkan dengan sampel lainnya. Diharapkan selanjutnya perlu dilakukan pemurnian fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi sisa dan ekstrak metanol daun maja dengan metode pemisahan yang sesuai untuk mengetahui senyawa murni yang berperan sebagai antiinflamasi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Universitas Halu Oleo atas dukungan dana yang telah diberikan dalam pelaksanaan penelitian ini melalui Program Penelitian Dosen Pemula dan seluruh pihak yang membantu jalannya penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aditya, M. R. T., Marisa, D., & Suhartono, E. (2015). Potensi Antiinflamasi Jus Buah Manggis (*Garcinia mangostana*) Terhadap Denaturasi Protein in Vitro. *Jurnal Berkala Kedokteran*, 11(2), 149–156.
- Ahmad, A., Juwita, J., & Ratulangi, S. (2015). Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etlintera elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(1), 1–10. <https://doi.org/10.7454/psr.v2i1.3481>
- Ahmad, A. R., Juwita, Siti Afrianty Daniya Ratulangi, & Abdul Malik. (2015). Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etlintera elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(1), 1–10. <https://doi.org/10.7454/psr.v2i1.3481>
- Azizah, D. N., Kumolowati, E., & Faramayuda, F. (2014). Penetapan Kadar Flavonoid Metode  $AlCl_3$  Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), 45–49. <https://doi.org/10.26874/kjif.v2i2.14>
- Dewantara, L. A. R., Ananto, A. D., & Andayani, Y. (2021). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Kacang Panjang (*Vigna unguiculata*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Visible. *Lumbung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 2(1), 102. <https://doi.org/10.31764/lf.v2i1.3759>
- Farida, Y., Rahmat, D., & Amanda, A. W. (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.
- Ghasemian, M., Owlia, S., & Owlia, M. B. (2016). Review of Anti-Inflammatory Herbal Medicines. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9130979>
- Hussain, M. S. B., & Hiremath, M. B. (2020). Evaluation of in Vitro Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of *Aegle Marmelos* Leaf Extracts. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 13(2), 2020.
- Mahasuari, N. P. S., Paramita, N. L. P. V., & Yadnya Putra, A. . G. R. (2020). Effect Of Methanol Concentration As A Solvent On Total Phenolic And Flavonoid Content Of Beluntas Leaf Extract (*Pulchea indica* L.). *Journal of Pharmaceutical Science and Application*, 2(2), 77. <https://doi.org/10.24843/jpsa.2020.v02.i02.p05>
- Megawati. (2020). Studi Etnofarmasi Tanaman Obat di Desa Risa Kecamatan Woha Kabupaten Bima. *Jurnal Farmasi Sandi Karsa (JFS)*, VI(2), 63–68.
- Minarti, Ruga, R., & Marliana, E. (2021). Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Pare Hutan (*Momordica balsamina* Linn.) Dalam Menghambat Denaturasi Protein. *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, 103–107.
- Mistriyani, Riyanto, S., & Rohman, A. (2018). Antioxidant activities of rambutan (*Nephelium lappaceum* L) peel in vitro. *Food Research*, 2(1), 119–123. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.2\(1\).150](https://doi.org/10.26656/fr.2017.2(1).150)
- Muthmainnah. (2017). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) Dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi*, XIII(2), 23–28.
- Novika, D. S., Ahsanunnisa, R., & 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. <https://doi.org/10.33019/jstk.v3i1.2117>
- Novitasari, R., Ratnasari, D., & Nuraini, S. S. (2019). Pembuatan Dan Uji Organoleptik Sediaan Teh Celup Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) Melalui Metode Pengovenan Dan Metode Sinar Matahari. *Journal of Holistic and Health Sciences*, 2(2), 66–71. <https://doi.org/10.51873/jhhs.v2i2.28>
- Puspa Sari, M., & Priastini Susilowati, R. (2019). Efektivitas Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* (L) Corr) sebagai Larvasida *Aedes aegypti*. *Jurnal Kedokteran YARSI*, 27(1), 001–009. <https://doi.org/10.33476/jky.v27i1.797>
- Rismayani. (2013). Manfaat Buah Maja Sebagai Pestisida Nabati Untuk Hama Penggerek Buah Kakao (*Conopomorpha cramerella*). *National Research and Innovation Agency of Republik of Indonesia* 39, December 2013.
- Sari, N. W., Fajri, M. Y., & W, A. (2018). Analisis Fitokimia dan Gugus Fungsi Dari Ekstrak Etanol Pisang Goroho Merah (*Musa Acuminata* (L)). *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 2(1), 30–34.
- Sukmawati, Hadi, H., & Aminah. (2017). Potensi Senyawa Flavonoid Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) Asal Ternate Sebagai Antioksidan. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 9(2), 195–200. <https://doi.org/10.33096/jifa.v9i2.278>
- Sulistiyarini, I., Sari, A., Tony, D., Wicaksono, A., Tinggi, S., Farmasi, I., Yayasan, ", Semarang, P., Letjend, J., Wibowo, S. E., & Semarang, P. (2016). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder batang buah naga(*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 56–62.
- Wahid, A. R., & Safwan. (2020). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Terhadap Ekstrak Tanaman Ranting Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 1(1), 24–27. <https://doi.org/10.31764/lf.v1i1.1208>
- Wardhani, R. A. P., & Supartono. (2015). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) pada Bakteri. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 4(1), 46–51. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>
- Wardhani, R. R. A. A. K., Okviyoandra Akhyar, & Emilda Prasiska. (2018). Analisis Skrining Fitokimia, Kadar Total Fenol-Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Kayu Tanaman Galam Rawa Gambut (*Melaleuca cajuputi* Roxb.). *Al-Ulum: Jurnal Sains Dan Teknologi*, 4(1), 39–45.
- Wati, D. R., Rahmawati, I., Sulistiyowati, T. I., Primandiri, P. R., & Santoso, A. M. (2022). Etnobotani Tanaman Maja (*Aegle marmelos*) di Kecamatan Mojo Kabupaten Kediri. *Prosiding Seminar Nasional Kesehatan, Sains Dan Pembelajaran*, 2(1), 549 – 553–549 – 553. <https://proceeding.unpkediri.ac.id/index.php/einkesjar/article/view/3073>
- Wilujeng, S., I, P. L., & Tiaranisa, P. (2020). Antioxidant Maja Fruit (*Aegle marmelos* (L) Carrea) Lowering Blood Sugar Mus Musculus. *Budapest International Research in Exact Sciences Medical, Biological, Argiculture, Engineering Science and Other Related Areas, Volume 2*,(3), 362–367.
- Wongrakpanich, S., Wongrakpanich, A., Melhado, K., & Rangaswami, J. (2018). A comprehensive review of non-steroidal anti-inflammatory drug use in the elderly. *Aging and Disease*, 9(1), 143–150. <https://doi.org/10.14336/AD.2017.0306>