

**AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK METANOL DAUN PARE HUTAN
(*Momordica balsamina* Linn.) DALAM MENGHAMBAT DENATURASI PROTEIN**

**ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF FOREST BITTER MELON LEAF
(*Momordica balsamina* Linn.) METHANOL EXTRACT IN INHIBITING PROTEIN
DENATURATION**

Minarti^{1*}, Ritbey Ruga^{1,2} dan Eva Marliana^{1,2}

¹Program Studi S-1 Kimia, FMIPA Universitas Mulawarman

²Pusat Unggulan Ipteks-Peguruan Tinggi Obat dan Kosmetika dari Hutan Tropika Lembab dan Lingkungannya
(PUI-PT OKTAL) Universitas Mulawarman Samarinda-Indonesia

*Corresponding Author: minarkimia25@gmail.com

ABSTRACT

The anti-inflammatory activity of forest bitter melon leaf (*Momordica balsamina* Linn.) methanol extract by inhibiting protein denaturation method was carried out. This study aims to determine the anti-inflammatory activity of forest bitter melon leaves (*Momordica balsamina* Linn.) methanol extract. In this research 0.2% (w/v) of bovine serum albumin (BSA) in tris buffer saline (TBS) was used. Diclofenac sodium was used as positive control. Base on the phytochemical test, methanol extract contained secondary metabolites including alkaloids, steroids, phenolics and flavonoids. The results of the anti-inflammatory activity test of methanol extract obtained inhibition concentration values of 50% (IC₅₀) at 127.95 µg/mL. Methanol extract of forest bitter melon leaves (*Momordica balsamina* Linn.) has activity as a moderate anti-inflammatory.

Keywords: *Momordica balsamina* Linn., Anti-inflammatory, Bovine Serum Albumin, 50% Inhibition Concentration.

ABSTRAK

Aktivitas antiinflamasi ekstrak metanol daun pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.) dalam menghambat denaturasi protein telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi dari ekstrak metanol daun pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.) dengan metode penghambatan denaturasi protein. Protein yang digunakan adalah *bovine serum albumin* (BSA) 0,2% (w/v) dalam *tris buffer saline* (TBS). Kontrol positif yang digunakan adalah natrium diklofenak. Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.) mengandung senyawa golongan alkaloid, steroid, fenolik dan flavonoid. Hasil uji aktivitas antiinflamasi ekstrak metanol daun pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.) diperoleh nilai *inhibition concentration* 50% (IC₅₀) sebesar 127,95 µg/mL. Ekstrak metanol daun pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.) memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi sedang.

Kata Kunci: *Momordica balsamina* Linn., Antiinflamasi, Bovine Serum Albumin, Inhibition Concentration 50%.

PENDAHULUAN

Peradangan merupakan suatu proses protektif normal tubuh terhadap suatu trauma fisik atau terhadap zat-zat mikrobiologik yang dapat menyebabkan terjadinya luka pada jaringan^[1]. Peradangan dapat menyebabkan berbagai macam penyakit seperti gatal-gatal, ruam pada kulit, diabetes dan malaria.

Penyakit yang disebabkan oleh peradangan dapat disembuhkan dengan mengkonsumsi obat antiinflamasi golongan steroid ataupun golongan non steroid, tetapi obat ini memiliki efek samping yang lebih besar jika dibandingkan dengan obat yang berasal dari bahan alam^[1]. Salah satu tumbuhan yang memiliki khasiat sebagai obat yaitu pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.).

Momordica balsamina Linn. adalah tanaman liar yang banyak tumbuh di hutan Kalimantan dan di daerah yang memiliki curah hujan tinggi. Tanaman ini memberikan banyak manfaat bagi masyarakat sebagai obat yang telah digunakan untuk kesehatan manusia dan hewan selama berabad-abad^[2]. Tanaman ini sudah terbukti memiliki aktivitas anti-HIV, antimikroba dan antiplasmodial^[3,4,5].

Berdasarkan penelitian Azizah (2018), senyawa metabolit sekunder yang ada pada ekstrak daun pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.) yaitu senyawa golongan fenol, flavonoid, saponin dan tanin. Senyawa dengan golongan flavonoid telah diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi^[6].

Oleh karena itu, dilakukan penelitian tentang aktivitas antiinflamasi pada tanaman pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.) dengan metode penghambatan denaturasi protein.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis Genesys 20, seperangkat alat *rotary evaporator*, inkubator, oven, vorteks, neraca analitik, wadah maserasi, wadah sampel, tabung reaksi, labu ukur, spatula, statif, klem, pipet ukur, pipet volume, pipet mikro, pipet tetes, corong pisah dan gelas kimia.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel daun *Momordica balsamina* Linn., metanol, H₂SO₄ 2N, pereaksi Dragendroff, asam asetat glassial, FeCl₃ 1%, H₂SO₄ pekat, serbuk Mg, HCl pekat, larutan *Bovine Serum Albumin* (BSA), *Tris Buffer Saline* (TBS), padatan natrium diklofenak dan akuades.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi

Sampel daun pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.) yang sudah kering, dihaluskan kemudian diekstraksi dengan metode maserasi selama 3 hari menggunakan pelarut metanol. Kemudian disaring dan filtrat akan dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 30-40°C sehingga menghasilkan ekstrak pekat metanol. Ekstraksi dilakukan sebanyak 2 kali^[7].

Uji Fitokimia

Uji alkaloid dilakukan dengan pereaksi Dragendroff, uji steroid/triterpenoid dengan

pereaksi Liebermann-Burchard, uji fenolik dengan pereaksi FeCl₃ 1%, uji flavonoid dengan metode Wilstater dan uji saponin dilakukan dengan mengocok sampel dalam aquades.

Uji Aktivitas Antiinflamasi

Pembuatan larutan BSA 0,2% (w/v) dalam TBS

BSA sebanyak 0,2 gram dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Ditambahkan larutan TBS hingga tanda tera.

Pembuatan kontrol positif

Dimasukkan 25 miligram natrium diklofenak ke dalam labu ukur 25 mL. Ditambahkan larutan akuades hingga tanda tera. Diperoleh larutan induk 1000 ppm. Larutan induk diencerkan menjadi 50, 25, 12,5, 6,25 dan 3,13 ppm.

Pembuatan larutan uji

Dimasukkan 25 miligram ekstrak metanol daun pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.) ke dalam labu ukur 25 mL. Ditambahkan pelarut yang sesuai hingga tanda tera. Diperoleh larutan induk 1000 ppm. Ekstrak metanol daun pare hutan tersebut diencerkan menjadi 500, 250, 125, 62,5 dan 31,3 ppm.

Pengujian aktivitas antiinflamasi

Masing-masing larutan kontrol negatif (metanol), larutan kontrol positif dan larutan uji sebanyak 50 µL dimasukkan dalam labu ukur 5 mL. Kemudian ditambahkan larutan BSA 0,2% dalam TBS hingga tanda tera. Larutan diinkubasi pada suhu ±25°C selama 30 menit. Dipanaskan dengan *water bath* pada suhu ±72°C selama 5 menit. Didinginkan pada suhu ruang selama 25 menit. Diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 660 nm^[8].

Analisis Data

Untuk mengetahui persentase hambatan denaturasi protein dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

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

Dimana jika % inhibisi lebih dari 20% berarti memiliki aktivitas antiinflamasi. Nilai *inhibition concentration* 50% (IC₅₀) dihitung dengan membuat persamaan regresi linear antara konsentrasi (X) dengan % inhibisi (Y)^[8].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia

Ekstrak metanol daun pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.) mengandung senyawa golongan alkaloid dalam bentuk bebas yang mudah larut dalam pelarut organik, mengandung senyawa steroid karena senyawa golongan steroid yang bersifat nonpolar sampai semi polar, mengandung senyawa fenolik dan flavonoid karena senyawa golongan fenolik dan flavonoid bersifat semi polar sampai polar sehingga dapat tertarik oleh pelarut metanol.

Tabel 1. Kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak metanol daun pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.)

Metabolit sekunder	Ekstrak metanol
Alkaloid	+
Steroid	+
Triterpenoid	-
Fenolik	+
Flavonoid	+
Saponin	-

Keterangan:

(+) terdapat senyawa metabolit sekunder

(-) tidak terdapat senyawa metabolit sekunder

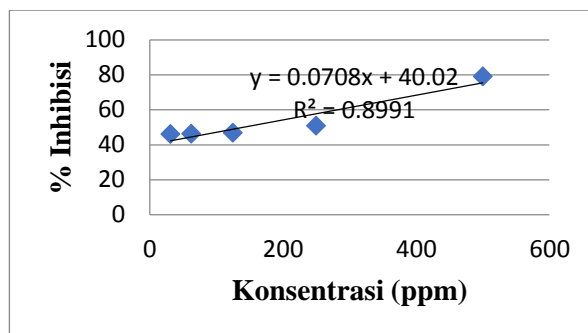
Uji Aktivitas Antiinflamasi

Tabel 2. Aktivitas antiinflamasi ekstrak metanol daun pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (Rata-rata)	Persen Inhibisi (%)
Kontrol	0,840	0,00
Negatif		
31,3	0,454	46,00
62,5	0,451	46,19
125	0,447	46,71
250	0,413	50,83
500	0,177	78,93

Grafik hubungan antara konsentrasi dengan % inhibisi ekstrak metanol daun pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.) dapat dilihat pada **Gambar 1**.

Berdasarkan gambar 1. ekstrak metanol diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,0708x + 40,02$ dan didapatkan nilai IC_{50} ekstrak metanol daun pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.) sebesar 127,95 ppm.

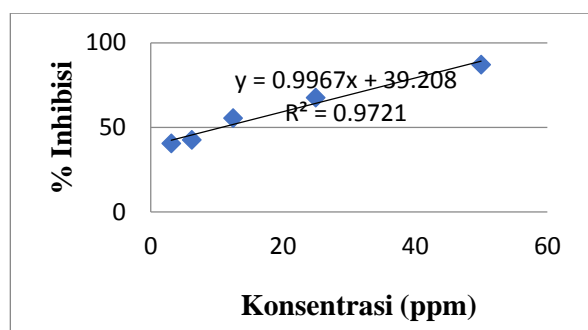


Gambar 1. Grafik hubungan antara konsentrasi dengan % inhibisi ekstrak metanol daun pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.)

Tabel 3. Aktivitas antiinflamasi natrium diklofenak

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (Rata-rata)	Persen Inhibisi (%)
Kontrol	0,858	0,00
negatif		
3,13	0,512	40,32
6,25	0,493	42,54
12,5	0,384	55,31
25	0,279	67,48
50	0,112	86,94

Grafik hubungan antara konsentrasi dengan % inhibisi natrium diklofenak dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Grafik hubungan antara konsentrasi dengan % inhibisi natrium diklofenak

Berdasarkan pada grafik regresi linear natrium diklofenak diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,9967x + 39,208$ dan didapatkan nilai IC_{50} natrium diklofenak sebesar 10,82 ppm.

Berdasarkan pada tabel 4. ekstrak metanol daun pare hutan memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi sedang karena memiliki nilai IC_{50} yang berada di antara 101-250 $\mu\text{g/mL}$ dan natrium diklofenak memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi sangat kuat karena memiliki nilai IC_{50} yang kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$. Aktivitas

antiinflamasi ekstrak metanol lebih besar dari pada natrium diklofenak karena ekstrak metanol masih memiliki banyak senyawa yang dapat mempengaruhi aktivitasnya.

Tabel 4. Tingkatan kekuatan aktivitas antiinflamasi^[9]

No.	Konsentrasi IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	Kategori
1.	< 50 $\mu\text{g/mL}$	Sangat kuat
2.	50-100 $\mu\text{g/mL}$	Kuat
3.	101-250 $\mu\text{g/mL}$	Sedang
4.	251-500 $\mu\text{g/mL}$	Lemah
5.	> 500 $\mu\text{g/mL}$	Tidak aktif

Metode penghambatan denaturasi protein dengan menggunakan *bovine serum albumin* (BSA) memiliki keunggulan yaitu metode yang cukup efektif karena ditandai dengan munculnya respon inflamasi yang diakibatkan oleh denaturasi protein pada sel tubuh. Salah satu faktor yang dapat menyebabkan denaturasi protein yaitu pemanasan. Pemanasan akan mempengaruhi ikatan yang terjadi antara interaksi hidrofobik dan ikatan hidrogen dan meningkatkan energi kinetik. Meningkatnya energi kinetik yang akan merusak struktur sekunder, tersier maupun kuaterner dengan mengacaukan ikatan hidrogen pada protein.

Senyawa golongan flavonoid dapat menghambat denaturasi protein yang disebabkan adanya gugus hidroksil dan cincin aromatik pada struktur senyawa ini, sehingga flavonoid dapat berinteraksi dengan albumin berupa interaksi ikatan hidrogen yang terbentuk antara atom H dari gugus hidroksil pada flavonoid dengan atom N pada residu asam amino dan atom O dari gugus karbonil pada flavonoid dengan atom H pada residu asam amino dalam rantai protein, sehingga membuat struktur protein menjadi lebih stabil dan tidak mudah terdenaturasi^[10].

Nijveldt (2001) menyebutkan bahwa senyawa golongan flavonoid dapat menghambat jalur lipooksigenase secara langsung pada inflamasi yang menyebabkan penghambatan biosintesis eicosanoid dan menginaktifkan radikal bebas yang dapat menarik mediator inflamasi.

KESIMPULAN

Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak metanol daun pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.) yaitu senyawa golongan alkaloid, steroid, fenolik dan flavonoid. Ekstrak metanol daun pare hutan (*Momordica*

balsamina Linn.) memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi sedang dengan nilai IC₅₀ sebesar 127,95 $\mu\text{g/mL}$.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Mycek, Mary, J. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar*. Jakarta: Widya Medika.
- [2] Awadallah, A., Osman, M.E. and Ibrahim, M.A. 2017. "Isolation and Partial Characterization of 3 Nontoxic Dgalactose Specific Isolectins from Seeds of *Momordica Balsamina*". *Journal of Wiley Molecular Recognition*. Vol. 30: 2.
- [3] Bot, Y.S., Mgbojikwe, L.O., Ambiku, A., Nwosu, C., Damshak, D. and Dadik, J. 2006. "Screening of The Fruit Pulp Extract of *Momordica Balsamina* for Anti-HIV Property". *Afr J Biotechnol*. Vol. 6:47–52.
- [4] Ramalhete, C., Spengler, G., Martins, A., Martins, M., Viveiras, M., Mulhovo, S., Ferreira, M. and Amaral, L. 2011. "Inhibition of efflux pumps in methicillin resistance *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* resistant strains by triterpenoids from *Momordica balsamina*". *International Journal Antimicrob Agents*. Vol. 37:70–74.
- [5] Silva, L.F., Catia, R. and Nogueira, K.L. 2015. "In vivo evaluation of isolated triterpenes and semi synthetic derivatives as antimalarial agents". *Journal of Medicinal Chemistry*. Vol. 102:398-402.
- [6] Nijveldt, R., Nood, E.V., Hoorn, D.E.V., Boelens, P.G., Norren, K.V., and Leeuwen, P.A.V. 2001. "Flavonoids: a riview of probable mechanisms of action and potential applications". *American Journal of Clinical and Nutrition*. Vol.74: 418-425.
- [7] Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- [8] Farida, Y., Rahmat, D. dan Amanda, A.W. 2018. "Uji Aktivitas Antiinflamasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein". *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 16 (2): 225-230.
- [9] Jun, M.H., Fong, X., Wan, C.S., Yang., C.T and Ho. 2003. Camparison of Antioxidant Activities of Isoflavones from Kudzu Root (*Pueraria labata* O.). *Journal Food Sciences Institute of Technologist*. Vol. 68: 2117-2122.

- [10] Zinellu, A., Sotgia, S., Scanu, B., Forteschi, M., Giordo, R., Cossu, A., Posadino, A. M., Carru, C. and Pintus, G. 2015. Human Serum Albumin Increases the Stability of Green Tea Catechins in Aqueous Physiological Conditions. *PLOS ONE*. Vol. 10(7): 1-12.