

**IDENTIFIKASI FLAVONOID DAN UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI
IN VITRO FRAKSI N-HEKSANA ANGgur LAUT (*Caulerpa racemosa*)
PADA MENCIT JANTAN YANG DIINDUKSI KARAGENAN**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
untuk mencapai gelar sarjana farmasi (S. Farm)



Oleh :

TIA JUNICA

20132025

**YAYASAN AL FATHAH
PRODI S1 FARMASI KLINIS DAN
KOMUNITAS SEKOLAH TINGGI KESEHATAN AL FATAH
BENGKULU 2024**

LEMBAR PERSETUJUAN

**Skripsi Ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menempuh Ujian
Sarjana (S1) Farmasi Pada Sekolah Tinggi Kesehatan Yayasan Al Fathah
Bengkulu**



Disetujui Oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II

(Luky Dharmavanti,M.Farm., Apt)
NIDN : 0211018504

(Eka Putri Wiyati,M.Farm., Apt)
NIDN : 0208119401

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal Skripsi ini dengan judul **“Identifikasi Flavonoid dan Uji Aktivitas Antiinflamasi In Vitro Fraksi n-heksana Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) Pada Mencit Jantan Yang Diinduksi Karagenan”** Proposal Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Sarjana Farmasi di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu. Dengan tidak mengurangi rasa hormat, penulis ucapkan terima kasih atas bantuan dan dukungannya kepada :

1. Luky Dharmayanti, M. Farm., Apt selaku pembimbing 1 yang telah tulus memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dalam penyusunan Proposal Skripsi ini.
2. Eka Putri Wiyati, M. Farm., Apt selaku pembimbing 2 yang telah tulus memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dalam penyusunan Proposal Skripsi ini.
3. Ibu Yuska Noviyanty, M.Farm.,Apt selaku Ketua STIKES Farmasi Al-fatah Bengkulu.
4. Bapak Drs. Djoko Triyono, Apt., MM selaku Ketua Yayasan Al-Fatah Bengkulu.

5. Para dosen dan staf karyawan Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.
6. Rekan-rekan satu angkatan di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu, yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun.

Bengkulu, januari 2024

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	iii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Batasan Masalah	3
1.3 Rumusan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
1.5.1 Bagi Akademik.....	5
1.5.2 Bagi Peneliti Lanjutan.....	5
1.5.3 Bagi Masyarakat.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kajian Teori.....	6
2.1.1 Anti Inflamasi.....	6
2.2 Klasifikasi Tanaman Anggur laut (<i>Caulerpa racemosa</i>)	8
2.2.1 Morfologi	9
2.2.2 Kandungan	10
2.2.3 Manfaat	10
2.3 Simplisia	11
2.4 Ekstraksi	11
2.4.1 Metode Ekstraksi.....	12

2.5 Skrining Fitokimia.....	15
2.6 Parameter Spesifik dan Parameter Non Spesifik.....	20
2.7 kromatografi Lapis Tipis (KLT)	22
2.8 Mekanisme Flavonoid Sebagai Anti Inflamasi	23
2.9 Hewan Uji.....	Error! Bookmark not defined. 23
2.10 Metode pengujian Antiinflamasi.....	23
2.11 Karagenan.....	26
2.12 kerangka konsep.....	25
BAB III METODE PENELITIAN	28
3.1 Tempat Dan Waktu Penelitian.....	27
3.2 Alat Dan Bahan	27
3.3 Verifikasi Tanaman	29
3.4 Prosedur Pembuatan Ekstrak Anggur laut (<i>Caulerpa racemosa</i>).....	28
3.4.1 Estraksi Sampel	29
3.5 Prosedur Pembuatan Ekstrak Anggur laut (<i>Caulerpa racemosa</i>).....	30
3.6 Pembuatan Fraksi n-heksana	32
3.7 Identifikasi Fitokimia	32
3.8 Penetapan Kadar Flavonoid	34
3.9 Uji Antiinflamasi Menggunakan hewan uji mencit jantan yang diinduksi karagenan	36

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Inflamasi merupakan suatu respon proteksi jaringan yang disebabkan oleh bakteri, zat kimia, trauma mekanik dan trauma fisik yang ditandai dengan adanya pembengkakan, rasa nyeri, kemerahan, dan peningkatan denaturasi protein (Novika dkk., 2021).

Menurut Dewi (2015) inflamasi adalah reaksi perlindungan terhadap kerusakan jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia, atau zat mikrobiologis. Orang sering menggunakan obat antiinflamasi non steroid (AINS), seperti natrium diklofenak, untuk mengatasi inflamasi. Namun, efek samping obat-obatan ini pada sistem gastrointestinal dapat menyebabkan tukak lambung dan sumbatan pembuluh darah lebih sering darah karena bekuan darah, yang memicu penelitian obat anti-inflamasi alternatif, terutama yang berasal dari bahan-bahan alami (Depkes RI, 1989).

Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) merupakan salah satu jenis rumput laut dari kelas *Chlorophyceae*. Spesies ini dikenal dengan sebutan anggur laut karena bentuknya menyerupai buah anggur. Di Indonesia *Caulerpa racemosa* dikenal dengan sebutan latoh (Jawa), bulung boni (Bali), lawi-lawi (Sulawesi), lat (Maluku), sedangkan di Jepang disebut Umi Budo (Yudasmara, 2014).

Pemeriksaan fitokimia pada *Caulerpa racemosa* dilaporkan mengandung senyawa bioaktif fenol, tanin, flavonoid, dan alkaloid, gallokatekin, epikatekin dan katekin. Antioksidan merupakan senyawa – senyawa turunan fenol (Faruwu & Handajani, 2020) *Caulerpa racemosa* mengandung berbagai macam antioksidan seperti protoklorofilide, beta karoten, dan senyawa-senyawa polifenol (flavonoid, lignin. Tannin). *Caulerpa racemosa* mengandung metabolit *caulerpin* berperan sebagai anti-*nociceptive* dan antiinflamasi. Proses fraksinasi dapat menghasilkan hasil metabolit yang dapat menghambat bakteri, virus, jamur dan epibion lainnya diantaranya adalah sebagai: cytostatic, antivirus, antihelminik, antibakteri, aktivitas antijamur. Selain itu juga bersifat sebagai antioksidan, antikanker dan antiinflamasi (Seaweed, 2016).

Karagenan merupakan senyawa yang dapat menimbulkan bengkak dengan menggunakan metode Winter. Karagenan merupakan polisakarida hasil ekstraksi rumput laut dari family Euchema, Chondrus, dan Gigartina. Bentuknya berupa serbuk berwarna putih hingga kuning kecoklatan, ada yang berbentuk butiran kasar hingga serbuk halus, tidak berbau, serta memberi rasa berlendir di lidah. Karagenan juga memiliki sifat larut dalam air bersuhu 80°C. Karagenan berperan dalam pembentukan edema dalam model inflamasi akut. Karagenan dipilih karena dapat menstimulasi pelepasan prostaglandin setelah disuntikkan ke hewan uji.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Feky Pundi Utami (2013), bahwa hasil dari aktivitas inflamasi, secara statistik ekstrak anggur laut (*Caulerpa*

racemosa) terbukti memiliki khasiat antiinflamasi secara in vivo yang kemampuannya sebanding dengan obat antiinflamasi komersial natrium diklofenak. Semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan terlihat bahwa semakin tinggi pula persentase daya antiinflamasi, ekstrak dengan dosis 81 mg/kg BB memiliki efektivitas yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya, yaitu sebesar 30.42%. Dari uraian diatas, penulis tertarik melakukan penelitian mengenai uji identifikasi flavonoid dan uji antiinflamasi in vitro fraksi n-heksana anggur laut (*Caulerpa racemosa*) pada mencit jantan yang diinduksi karagenan.

1.2 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Sampel yang digunakan Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) yang di dapat di pantai panjang kota Bengkulu.
2. Metode ekstraksi yang digunakan untuk membuat ekstrak Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%.
3. Identifikasi fraksi n-heksana Anggur laut (*Caulerpa racemosa*).
4. Uji aktivitas antiinflamasi dengan hewan uji yang diinduksi karagenan.

1.3 Rumusan Masalah

Dalam rangka mencapai tujuan ada penelitian ini ada beberapa rumusan masalah yang perlu diselesaikan, berikut beberapa rumusan masalahnya:

1. Apakah tanaman anggur laut (*Caulerpa rosemoca*) mempunyai kandungan senyawa flavonoid?
2. Apakah fraksi n-heksan dari ekstraks anggur laut (*Caulerpa rocemosa*) mempunyai kandungan sebagai anti inflamasi?
3. Konsentrasi berapakah ekstrak anggur laut (*Caulerpa rocemosa*) yang paling baik untuk efektivitas terhadap penyembuhan anti inflamasi?

1.4 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui apakah anggur laut (*Caulerpa rocemosa*) memiliki aktivitas sebagai anti inflamasi
2. Untuk mengetahui senyawa apakah anggur laut (*Caulerpa rocemosa*) mempunyai senyawa flavonoid sebagai anti inflamasi.
3. Untuk mengetahui berpakah konsentrasi ekstrak anggur laut (*Caulerpa rocemosa*) yang paling baik untuk efektivitas terhadap penyembuhan anti inflamasi.
4. Untuk mengetahui efek anti inflamasi menggunakan hewan uji mencit.

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini adalah :

1.5.1 Bagi Akademik

Adapun manfaat bagi akademik yaitu dapat menjadi wawasan dan penambah pengetahuan bagi perkembangan akademik dan dapat digunakan sebagai bahan referensi.

1.5.2 Bagi Peneliti Lanjutan

- a. Menambah pemahaman ilmiah tentang potensi anggur laut dalam penyembuhan antiinflamasi
- b. Sebagai sumber bagi peneliti lain untuk melakukan penelitian lanjutan tentang anggur laut (*Caulerpa racemosa*).

1.5.3 Bagi Masyarakat

Peningkatan Kesehatan Masyarakat: Memberikan alternatif yang lebih aman dan berkelanjutan dalam pengobatan luka bakar, dengan potensi dampak positif pada kesehatan masyarakat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian Teori

2.1.1 Anti Inflamasi

Inflamasi merupakan respon perlindungan normal terhadap cedera jaringan yang di sebabkan oleh trauma fisik bahan kimia berbahaya, atau agen mikrobiologi. Inflamasi adalah usaha tubuh untuk menonaktifkan atau menghancurkan organisme penginvasi, menghilangkan iritan, dan persiapan tahapan untuk perbaikan jaringan (Teresia Dkk., 2016).

Menurut (Khotimah, 2017) penggunaan obat-obatan antiinflamasi bila digunakan dalam jangka waktu yang lama dapat menurunkan fungsi organ tubuh seperti ginjal, hati, organ pada sistem pencernaan juga jantung. Oleh karena itu, diperlukan alternatif lain salah satunya berasal dari tanaman yang memiliki efek samping relatif lebih aman.

Obat antiinflamasi yang biasa digunakan dibagi menjadi dua, yaitu antiinflamasi steroid dan antiinflamasi nonsteroid. Namun kedua golongan obat tersebut memiliki banyak efek samping. Antiinflamasi steroid dapat menyebabkan tukak peptik, penurunan imunitas terhadap infeksi, osteoporosis, atropi otot dan jaringan lemak, meningkatkan tekanan intra okular, serta bersifat diabetik, sedangkan antiinflamasi nonsteroid dapat menyebabkan tukak lambung hingga pendarahan, gangguan ginjal, dan anemia.

Obat Antiinflamasi Non-Steroid (AINS) seperti natrium diklofenak sering kali digunakan masyarakat untuk mengatasi inflamasi. Akan tetapi obat-obatan anti-inflamasi non steroid mempunyai efek samping pada sistem gastrointestinal yang meningkatkan resiko terjadinya tukak lambung dan sumbatan pada pembuluh darah akibat bekuan darah. Hal tersebut menyebabkan gencarnya upaya pencarian alternatif obat anti-inflamasi, terutama yang berasal dari bahan alam (Depkes RI, 1989).

Berdasarkan hal tersebut maka banyak dilakukan pengembangan antiinflamasi yang berasal dari bahan alam, terutama pada tanaman. penggunaan obat-obatan antiinflamasi bila digunakan dalam jangka waktu yang lama dapat menurunkan fungsi organ tubuh seperti ginjal, hati, organ pada sistem pencernaan juga jantung Oleh karena itu, diperlukan alternatif lain salah satunya berasal dari tanaman yang memiliki efek samping relatif lebih aman. Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan obat diantaranya buah, daun, kulit batang, rimpang, dan bunga. (Ramadhani dkk., 2016)

2.1.2 Natrium Diklofenak

Natrium diklofenak adalah obat anti inflamasi non-steroid yang merupakan senyawa aktif dengan efek farmakologis sebagai analgetik, antipiretik dan antiradang. Mekanisme kerja natrium diklofenak yaitu menghambat sintesa prostaglandin yaitu suatu mediator nyeri, Natrium diklofenak mempunyai waktu paruh yang pendek sekitar 1-2 jam dan digunakan untuk perawatan penyakit

reumatik, penyakit reumatik biasanya diderita oleh pasien lansia dimana pasien tersebut seringkali lupa meminum obat tepat pada waktunya, sehingga kepatuhan pasien untuk minum obat sangat kurang. Oleh karena itu, kecepatan eliminasi dari suatu pelepasan obat yang diperlambat diharapkan dapat mempertahankan konsentrasi natrium diklofenak, sehingga mempunyai efek terapeutik dalam darah pada periode waktu yang lebih lama (Ratih, 2015).

2.2 Klasifikasi Tanaman Anggur laut (*Caulerpa rocemosa*)



Gambar 1. Anggur laut (*Caulerpa rocemosa*)

sumber : dokumen pribadi

klasifikasi tanaman anggur laut(*Caulerpa rocemosa*)

kingdom : *Plantae*

divisi : *Chlorophyta*

kelas : *Bryopsidophyceae*

ordo : *Bryopsidales*

family : *Caulerpaceae*

genus : *Caulerpa*

spesies : *Caulerpa racemosa*

2.2.1 Morfologi

Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) tumbuh pada substrat pasir bercampur dengan pecahan cangkang moluska (*gravel*) dan patahan-patahan karang. Hidup bersama dengan alga yang lain seperti *Padina* dan juga lamun. (Rahim Dkk., 2023).

Menurut Sunaryo, (2015) tumbuhan ini hidup menempel di substrat dasar perairan seperti: pecahan karang, pasir dan lumpur. *Caulerpa racemosa* banyak dijumpai pada tempat yang terlindungi dengan air yang jernih.

Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) memiliki bentuk yang menyerupai anggur, habitatnya di wilayah pesisir khususnya daerah pasang surut, keberadaannya di suatu lingkungan perairan pesisir sangat dipengaruhi oleh suhu, pH, salinitas, dan kecerahan untuk fotosintesis (Septiyaningrumt dkk., 2020). Beberapa jenis *Caulerpa racemosa* dianggap sebagai spesies invasif yang menimbulkan dampak negatif terhadap ekologi laut, tetapi pemanfaatan *Caulerpa racemosa* untuk keperluan nutraceutical dan farmasi telah dipelajari secara intensif (Darmawan dkk., 2020).

Jenis – jenis anggur laut (*Caulerpa racemosa*)

1. *Caulerpa lentifera*
2. *Caulerpa racemosa*
3. *Caulerpa sertuloroides*

4. *Caulerpa cupresoides/serrulata (forskal)*

5. *Caulerpa erpa taxifolia*

2.2.2 Kandungan

Asam folat, tiamin, dan asam askorbat sehingga dapat berfungsi sebagai penangkal radikal bebas dan antioksidan (Anwar, Bubun, & Rosmawati, 2016), Anggur laut mengandung metabolit caulerpin berperan sebagai anti-nociceptive dan antiinflamasi (Faruwu & Handajani, 2020).

2.2.3 Manfaat

Manfaat *Caulerpa rocemosa* dalam bidang kesehatan diidentifikasi memiliki senyawa bioprospeksi yang menunjukkan berbagai bioaktivitas seperti anti kanker, insektisida, anti bakteri, anti inflamasi, anti diabetik, dan anti plasmodial (Darmawan dkk., 2020). memiliki zat bioaktif seperti anti jamur, anti tumor, dan gondok (Tapotubun, 2018), anti oksidan, obat diare, batuk, menurunkan tekanan darah, dan dipercaya sebagai makanan kecantikan (Tapotubun dkk., 2018) kaya akan berbagai nutrisi yang dibutuhkan oleh tubuh manusia, termasuk asam amino, asam lemak tak jenuh dan mineral, serta konstan atau jejak unsur-unsur seperti P, Ca, Mg, Cu dan Se (Huang et al., 2020). Anggur laut mengandung metabolit caulerpin berperan sebagai anti-nociceptive dan antiinflamasi (Faruwu & Handajani, 2020).

2.3 Simplisia

Bahan alamiah yang belum mengalami pengolahan apapun atau hanya dikeringkan saja dan digunakan sebagai obat dinamakan simplisia (Depkes, 1985). Pengeringan merupakan proses pengurangan kadar air atau pemisahan air dalam jumlah yang relatif sedikit dari bahan dengan bantuan energi panas. Tujuan dari proses pengeringan yaitu mengurangi kandungan air di dalam bahan dan bahan tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama. Pengurangan kadar air dapat menghentikan proses enzimatik sehingga dapat mencegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia. Keberadaan air dalam sampel dapat memicu pertumbuhan kapang dan mikroba lainnya. Selama bahan masih memiliki kandungan air yang tinggi beberapa enzim tertentu dalam sel akan menguraikan senyawa aktif, meskipun setelah selnya dalam keadaan mati (Depkes, 1985).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses penyarian zat aktif dari tanaman obat yang bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bagian tanaman obat tersebut (Marjoni, 2016).

Metode ekstraksi adalah proses pemisahan senyawa dari matriks atau simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Tujuan dari ekstraksi adalah menarik atau memisahkan senyawa dari campurannya atau simplisa. Ada beberapa cara ekstraksi yang dapat digunakan, pemilihan metode ini dilakukan dengan

memerhatikan sifat dari senyawa, pelarut yang digunakan, dan alat yang tersedia (Hanani, 2014)

Dalam pemilihan metode ekstraksi perlu banyak pertimbangan antara lain cara ekstraksi yang akan mempengaruhi hasil ekstrak yang didapat. Metode ekstraksi secara dingin bertujuan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang terdapat dalam simplisia yang tidak tahan panas (Marjoni, 2016).

Pada proses ekstraksi ini digunakan Pelarut etanol 96% karena dapat menyari hampir keseluruhan kandungan simplisia baik non polar, semi polar maupun polar, dan Tujuan pengadukan agar senyawa yang terdapat dalam anggur laut ikut tersari dengan baik.

2.4.1 Metode Ekstraksi

a. Cara dingin

1. Maserasi

Maserasi adalah cara ekstraksi simplisia dengan merendam dalam pelarut pada suhu kamar sehingga kerusakan atau degradasi metabolit dapat diminimalisasi. Pada maserasi, terjadi proses keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel sehingga diperlukan penggantian pelarut secara berulang (Hanani, 2015).

Maserasi dapat di lakukan modifikasi antara lain: digesti, maserasi dengan mesin pengaduk, remaserasi, maserasi melingkar, maserasi melingkar bertingkat (Departemen Kesehatan RI, 1986)

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah, sedangkan kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Departemen Kesehatan RI, 1986).

2. Perkolasi

Perkolasi adalah cara ekstraksi simplisia menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan mengalirkan pelarut melalui simplisia hingga senyawa tersari sempurna . Cara ini memerlukan waktu lebih lama dan pelarut yang lebih banyak Untuk meyakinkan perkolasi sudah sempurna , perkolat dapat diuji adanya metabolit dengan pereaksi yang spesifik (Hanani, 2015).

Alat yang digunakan untuk perkolasi adalah perkolator, cairan yang digunakan untuk menyari disebut cairan penyari atau menstrum, larutan zat aktif yang keluar dari perkolator disebut sari atau perkolat, sedangkan sisa setelah dilakukannya penyarian disebut ampas atau sisa perkolasi (Departemen Kesehatan RI, 1986)

b. Cara panas :

1. Soxhletasi

Soxhletasi adalah cara ekstraksi menggunakan pelarut organik pada suhu didih dengan alat soxhlet. Pada metode ini, simplisia dan ekstrak berada pada labu yang berbeda. Pemanasan mengakibatkan pelarut menguap, dan uap masuk dalam labu pendingin. Hasil kondensasi jatuh bagian simplisia

sehingga ekstraksi berlangsung terus-menerus dengan jumlah pelarut relatif konstan. Ekstraksi ini dikenal sebagai ekstraksi sinambung (Hanani, 2015).

2. Refluks

Refluks adalah cara ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Agar hasil penyarian lebih baik atau sempurna, umumnya dilakukan berulang-ulang 3-6 kali terhadap residu pertama. Cara ini memungkinkan terjadinya penguraian senyawa yang tidak tahan panas (Hanani, 2015).

3. Infundasi

Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi simplisia dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Cara ini adalah cara paling sederhana untuk pembuatan sediaan herbal dari bagian tanaman yang lunak seperti daun dan bunga

4. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu ekstrasinya lebih lama yaitu 30 menit dan temperatur sampai titik didih air (Hanani, 2015).

5. Digesti

Digesti adalah cara maserasi dengan menggunakan pemanasan lemah, yaitu pada suhu 40°C-50°C. cara maserasi ini hanya dapat dilakukan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan (Departemen Kesehatan RI, 1986).

2.5 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan suatu tahap awal untuk mengidentifikasi kandungan suatu senyawa dalam simplisia atau tanaman yang akan diuji. Fitokimia atau kimia tumbuhan mempelajari aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan ditimbun oleh tumbuhan, yaitu mengenai struktur kimianya, biosintesisnya, penyebarannya secara ilmiah serta fungsi biologinya. Senyawa kimia sebagai hasil metabolit sekunder telah banyak digunakan sebagai zat warna, racun, aroma makanan, obat-obatan dan sebagainya serta sangat banyak jenis tumbuh-tumbuhan yang digunakan obat-obatan yang dikenal sebagai obat tradisional sehingga diperlukan penelitian tentang penggunaan tumbuh-tumbuhan berkhasiat dan mengetahui senyawa kimia yang berfungsi sebagai obat. Senyawa-senyawa kimia yang merupakan hasil metabolisme sekunder pada tumbuhan sangat beragam dan dapat diklasifikasikan dalam beberapa golongan senyawa bahan alam, yaitu saponin, steroid, tanin, flavonoid dan alkaloid (Putranti dkk, 2013).

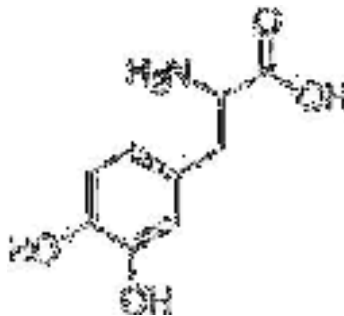
1. Alkaloid

Alkaloid berasal dari suku kata “Alkali” yang berarti bau dan “Oid” yang berarti mirip sehingga pengertian alkaloid adalah senyawa yang mengandung nitrogen bersifat basa dan mempunyai aktivitas farmakologi. Alkaloid pada umumnya merupakan senyawa padat, berbentuk kristal atau amorf, tidak berwarna dan mempunyai rasa pahit. Dalam bentuk bebas alkaloid merupakan basa lemah yang sukar larut dalam air tetapi mudah larut dalam pelarut organik. Untuk identifikasi biasanya dilakukan dengan menggunakan

pereaksi Dragendorff, Mayer dan lain-lain. Alkaloid merupakan senyawa yang mempunyai aktifitas fisiologi yang menonjol dan digunakan secara luas dalam bidang pengobatan (Harbone, 1987).

Beberapa sifat dari alkaloid yaitu:

- a. Mengandung atom Nitrogen.
- b. Umumnya berupa kristal atau serbuk amorf.
- c. Dengan logam berat (Hg, Au dan lainnya membentuk endapan kristal).
- d. Dalam tumbuhan berada dalam bentuk bebas dan bentuk N-Oksida atau dalam bentuk garamnya
- e. Sering beracun
- f. Umumnya mempunyai rasa pahit
- g. Alkaloid dalam bentuk bebas tidak larut dalam air tetapi larut dalam kloroform, eter, dan pelarut organik lainnya yang bersifat relatif non polar
- h. Alkaloid dalam bentuk garamnya mudah larut dalam air
- i. Alkaloid bebas bersifat basa karena adanya pasangan elektron bebas dan atom N-nya
- j. Biasanya banyak digunakan dibidang farmasi (Soegihardjo,2013)

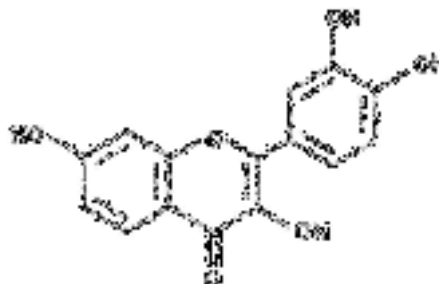


Gambar 2. Struktur alkaloid (Soegihardjo,2013)

2. Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan fenol alam yang terbesar, mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, terutama dalam konfigurasi C6-C3-C6 artinya, kerangka karbonya terdiri atas dua gugus C6 (cincin benzene tersubsitusi) yang dihubungkan oleh alfatis tiga karbon.

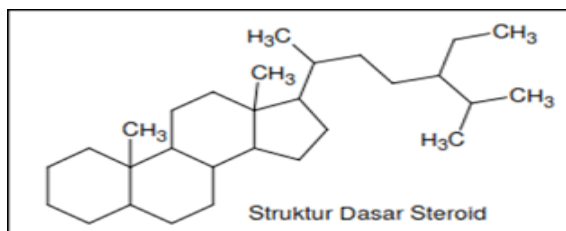
Beberapa fungsi flavonoid adalah pengatur tumbuh, pengaruh fotosintesis, bekerja sebagai mikroba dan antivirus. Flavonoid adalah senyawa fenol, sehingga warna berubah bila ditambah basa atau amoniak. Terdapat sekitar flavonoid yaitu antosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, khalkon, auron, favanon dan isoflavon (Harbone, 1987).



Gambar 3. Struktur flavonoid (Harbone,1987)

3. Steroid/Triterpenoid

Steroid sama dengan inti triterpenoid tertasiklik. Steroida alkohol biasanya dinamakan dengan “Sterol” tetapi karena praktis semua steroid tumbuh berupa alkohol sering kali semuanya disebut “sterol”. Sterol adalah triterpena yang kerangka dasarnya cincin siklopentana perhidrofenantrena. Dahulu sterol terutama dianggap sebagai senyawa hormon kelamin (asam empedu), tetapi pada tahun-tahun terakhir ini makin banyak senyawa tersebut yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan

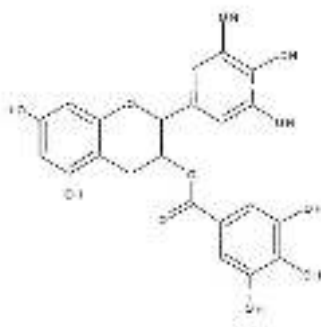


Gambar 4. Struktur steroid (Harbone,1987)

4. Tanin

Tanin merupakan senyawa umum yang terdapat dalam tumbuhan berpembuluh, memiliki gugus fenol, memiliki rasa sepat dan mampu menyamak kulit karena kemampuannya menyambung silang protein. Jika bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air. Tanin secara kimia dikelompokkan menjadi dua golongan yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi atau flavon secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal yang membentuk dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi. Tanin

terhidrolisis mengandung ikatan ester yang dapat terhidrolisis jika dididihkan dalam asam klorida encer (Harbone, 1987).

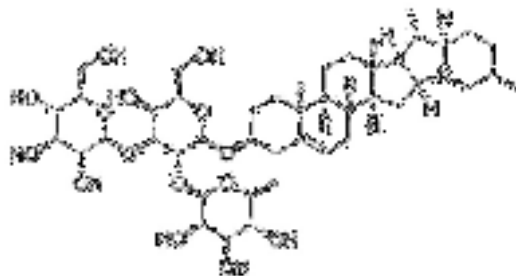


Gambar 5. Struktur Tanin (Harbone,1987)

5. Saponin

Saponin diberi nama demikian karena sifatnya menyerupai sabun (bahasa latin “sapo” berarti sabun). Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa jika dikocok dengan air. Dikenal dua jenis saponin yaitu glikosida triterpenoida dan glikosida steroida tertentu yang mempunyai rantai samping spirokental. Kedua jenis saponin ini larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter. Aglikonnya disebut sapogenin, diperoleh dengan hidrolisis dalam suasana asam atau hidrolisis memakai enzim.

Senyawa saponin dapat pula diidentifikasi dari warna yang dihasilkannya dengan pereaksi *Liebermann-Burchard*. Warna biru-hijau menunjukkan saponin, steroida, dan warna merah, merah muda, atau ungu menunjukkan saponin triterpenoida.



Gambar 6. Struktur saponin (Harbone,1987)

2.6 Parameter Spesifik dan Parameter Non Spesifik

1. parameter spesifik

- a. Identitas ekstrak dengan pendeskripsian tata nama yaitu nama ekstrak, nama latin tumbuhan, bagian tumbuhan yang digunakan dan nama Indonesia tumbuhan
- b. Pemeriksaan Organoleptis Pemeriksaan organoleptis dengan menggunakan panca indera dalam mendeskripsikan bentuk, bau, dan warna.

2. parameter non spesifik

Parameter non spesifik ekstrak menurut buku “Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat” (Depkes RI., 2000), meliputi :

a. Bobot Jenis

Parameter bobot jenis adalah massa per satuan volume yang diukur pada suhu kamar tertentu (25°C) yang menggunakan alat khusus piknometer atau alat lainnya. Tujuannya adalah memberi batasan tentang besarnya massa persatuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat

(kental) yang masih dapat dituang, bobot jenis juga terkait dengan kemurnian dari ekstrak dan kontaminasi (Depkes RI., 2000).

b. Kadar Air

Parameter kadar air adalah pengukuran kandungan air yang berada di dalam bahan, yang bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam bahan (Depkes RI., 2000). Syarat kadar air ekstrak pegagan menurut parameter standar yang berlaku adalah $<10\%$ (Depkes RI, 2008)

c. Kadar Abu

Parameter kadar abu adalah bahan dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap. Sehingga tinggal unsur mineral dan anorganik, yang memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Parameter kadar abu ini terkait dengan kemurnian dan kontaminasi suatu ekstrak (Depkes RI., 2000). Syarat kadar abu total ekstrak pegagan yaitu $16,6\%$ dan kadar abu tidak larut asam $0,7\%$ (Depkes RI, 2008).

d. Susut pengeringan

Parameter susut pengeringan merupakan pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada temperatur 105°C selama 30 menit atau sampai berat konstan, yang dinyatakan sebagai nilai persen. Dalam hal khusus (jika seluruh pelarut organik menguap dan bahan tidak mengandung minyak atsiri) identik dengan kadar air karena berada di lingkungan udara terbuka. Tujuannya untuk memberikan batasan maksimal (rentan) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan

(Depkes RI., 2000). Syarat susut pengeringan ekstrak pegagan yaitu tidak lebih dari 11% (Depkes RI, 2008).

2.7 kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis merupakan suatu teknik pemisahan senyawa menggunakan fase gerak dan fase diam. Kromatografi lapis tipis merupakan teknik pemisahan senyawa organik yang cepat dan penggunaannya secara sederhana. Kromatografi lapis tipis biasanya digunakan untuk memantau kemajuan reaksi organik dan memeriksa kemurnian produk. Teknik pemisahan senyawa menggunakan KLT ini memiliki banyak kelebihan yakni dapat diaplikasikan untuk semua senyawa, biaya pemisahan yang dicapai tidak terlalu mahal serta waktu yang dicapai dalam proses pemisahan singkat sehingga teknik KLT ini memiliki jaminan keberhasilan dalam pemisahan campuran yang tidak diketahui. Teknik identifikasi dalam bidang kecantikan dapat dilakukan menggunakan KLT untuk mengidentifikasi bahan baku pewarna dan produk akhir, pengawet, surfaktan, asam lemak dan konstituen parfum (Miranti, 2022). Prinsip Kerja Kromatografi Lapis Tipis yakni melalui tahapan adsorpsi, desorpsi, dan elusi. Adsorpsi terjadi ketika larutan sampel ditotolkan ke fase diam (plat KLT) menggunakan pipa kapiler, dan komponen-komponen dalam sampel akan teradsorpsi melalui fase diam. Desorpsi merupakan peristiwa ketika komponen yang teradsorpsi di fase diam didesak oleh fase gerak (eluen) sehingga komponen tersebut berikatan dengan fase diam. Elusi adalah peristiwa ketika komponen ikut terbawa oleh eluen (Husna & Mita, 2020).

Pada analisis KLT, sampel dalam jumlah kecil ditotolkan menggunakan pipa kapiler diatas permukaan pelat tipis fase diam (adsorben), lalu pelat diletakkan dengan posisi tegak dalam bejana pengembang yang berisi sedikit pelarut pengembang. Pelarut pengembang kemudian akan naik sepanjang lapisan pelat dan akan membawa komponen-komponen yang terdapat dalam sampel. (Atum, 2014)

2.8 Mekanisme Flavonoid Sebagai Anti Inflamasi

kandungan kimia yang memiliki khasiat sebagai antiinflamasi adalah flavonoid, Flavonoid dapat menghambatan siklooksigenase atau lipooksigenase dan menghambat akumulasi leukosit di daerah sehingga dapat menjadi antiinflamasi. (Ramadhani Dkk., 2016)

2.9 Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian adalah mencit putih jantan yang sehat dengan umur antara 2-3 bulan, dan berat badan antara 20-30 gram. Sebelum pengujian hewan percobaan dilakukan aklimatisasi selama 7 hari. Hewan uji yang digunakan sebanyak 25 ekor mencit putih jantan yang dikelompokkan menjadi 5 kelompok dimana tiap-tiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. (Rahmila Dkk, 2022)

2.10 Metode pengujian Antiinflamasi

Ada 2 metode dalam pengujian antinflmasi yaitu

1. Metode in vivo dengan hewan uji telah banyak digunakan untuk mencari potensi bahan alam yang memiliki aktivitas antiinflamasi. Namun metode ini membutuhkan waktu yang lebih lama dari metode in vitro. Selain itu sulitnya mendapatkan hewan uji yang menggunakan izin, proses perlakuan hewan, dan proses penelitian yang panjang juga menjadi kekurangan uji in vivo untuk digunakan (Ermawati Dkk., 2020)
2. Metode in vitro denaturasi protein dengan Bovine Serum Albumin dipilih karena pada penyakit artritis produksi dari antigen-auto juga dapat mengakibatkan denaturasi protein secara in vivo pada inflamasi.

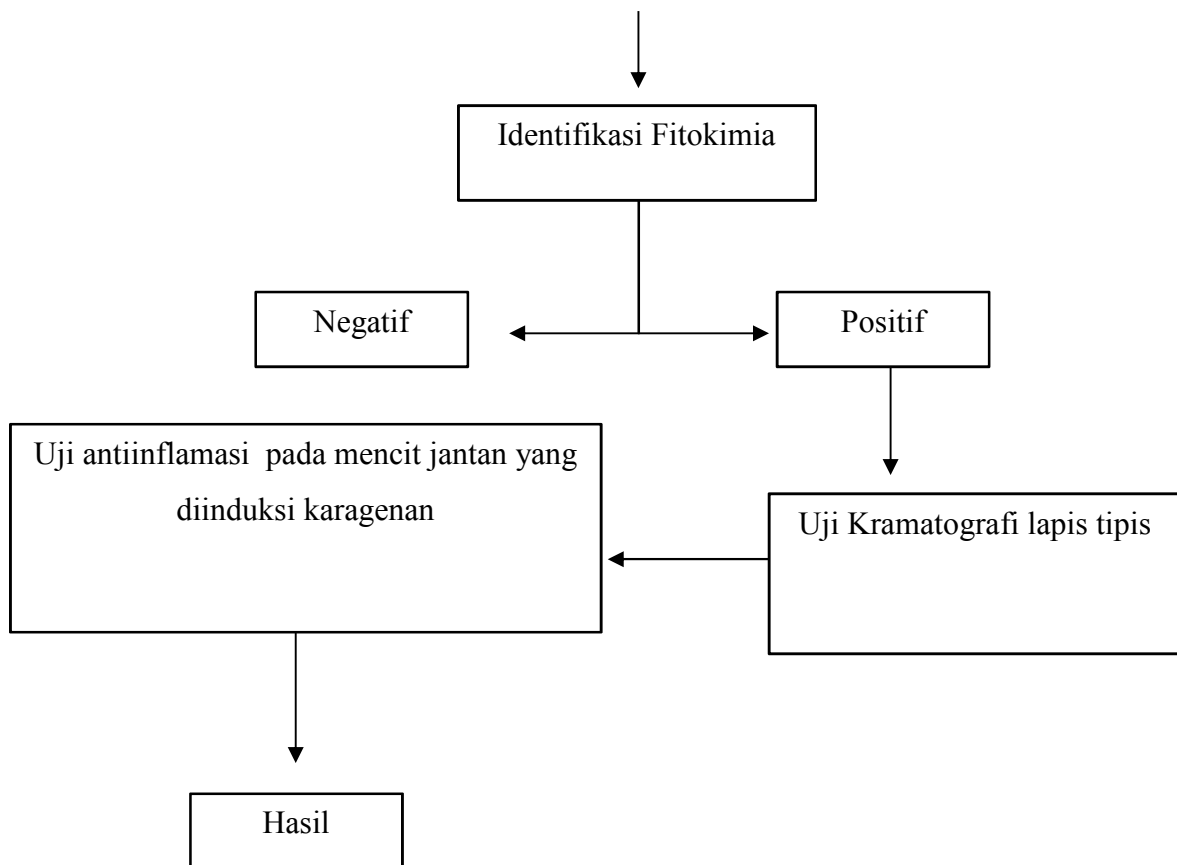
2.11 Karagenan

Karagenan merupakan senyawa yang dapat menimbulkan bengkak dengan menggunakan metode Winter. Karagenan merupakan polisakarida hasil ekstraksi rumput laut dari family Eucheuma, Chondrus, dan Gigartina. Bentuknya berupa serbuk berwarna putih hingga kuning kecoklatan, ada yang berbentuk butiran kasar hingga serbuk halus, tidak berbau, serta memberi rasa berlendir di lidah. Karagenan juga memiliki sifat larut dalam air bersuhu 80°C. Karagenan berperan dalam pembentukan edema dalam model inflamasi akut. Karagenan dipilih karena dapat menstimulasi pelepasan prostaglandin setelah disuntikkan ke hewan uji. Oleh karena itu, karagenan dapat digunakan sebagai iritan dalam metode uji yang bertujuan untuk mencari obat-obat antiinflamasi, tepatnya yang bekerja dengan menghambat sintesis prostaglandin.

Pembentukan edema yang diinduksi oleh karagenan terdiri dari tiga fase. Fase pertama adalah pelepasan histamin dan serotonin yang berlangsung hingga 90 menit. Fase kedua adalah pelepasan bradikinin yang terjadi pada 1,5 hingga 2,5 jam setelah induksi. Pada fase ketiga, terjadi pelepasan prostaglandin pada 3 jam setelah induksi, kemudian edema berkembang cepat dan bertahan pada volume maksimal sekitar 5 jam setelah induksi. Berdasarkan penelitian terdahulu, yang berperan dalam proses pembentukan edema adalah prostaglandin yang terbentuk melalui proses biosintesis prostaglandin. Senyawa ini dilepaskan lalu bereaksi dengan jaringan di sekitarnya dan menyebabkan perubahan pada pembuluh darah yang merupakan awal mulai terjadinya edema. (Bashar, 2020)

2.12 kerangka konsep

Identifikasi Fitokimia dan Uji Aktivitas Antiinflamasi In Vitro Fraksi n-heksana Ekstrak Anggur Laut (<i>Caulerpa racemosa</i>) Pada Mencit Jantan Yang Diinduksi Karagenan



Gambar 8. Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan dilaboratorium fitokimia untuk melakukan identifikasi kimia dan dilaboratorium farmakologi Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Kota Bengkulu. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan februari sampai dengan selesai.

3.2. Alat Dan Bahan

1. Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Batang pengaduk, cawan porselin, kain penyari, kipas, lampu spiritus, plat tetes, rak tabung, sendok tanduk, tabung reaksi, toples kaca, pipet tetes, gelas beaker, labu ukur, mikropipet, Timbangan analitik, chamber, blender, penangas air, *Rotary evaporator*.

Instrument yang digunakan dalam penelitian ini adalah Lempeng KLT

Hewan : Mencit jantan

2 .Bahan

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : ekstrak Anggur laut (*Caulerpa racemosa*), Asam Asetat Anhidrat, Asam Sulfat, Aquadest, Etanol 70 %, Etil Asetat, Besi (III) Klorida, Asam Klorida Pekat, Asam Klorida, Serbuk Magnesium, pereaksi mayer, pereaksi dragendrof , perekasi wagner, methanol, asam asetat glasial, NaCl, natrium diklofenak, metanol, n-heksan, etil asetat, AICI 10%, sitroborat, silica gel, kalium asetat, karagenan, CMC Na 0,5%.

3.3 Verifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dilaksanakan di Laboratorium Biologi Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu.

3.4 Prosedur Pembuatan Ekstrak Anggur laut (*Caulerpa racemosa*)

Ekstraksi anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, simplisia Anggur laut dimaserasi dengan perbandingan (1:5 b/v) lakukan pengocokan menggunakan orbital shaker (150 rpm) selama 3x24 jam, kemudian disaring dengan kertas Whatman 42 sehingga didapatkan filtrate dan residu. Filtrate yang didapatkan dilakukan evaporasi menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu 400C (Yanuarti., Dkk, 2017)

3.4.1 Ekstrak Sampel

Proses ekstraksi sampel *Caulerpa racemosa* dilakukan dengan melakukan proses pengeringan terlebih dahulu dengan cara diangin-anginkan selama 4 hari. Rumus rendeman sampel.

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat basah} - \text{berat kering}}{\text{berat sampel basah (g)}} \times 100\%$$

Metode ekstraksi yang dipilih karena metode ini memiliki beberapa keuntungan, yaitu prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana. Metode ekstraksi maserasi tidak dipanaskan sehingga senyawa seperti flavonoid yang sangat rentan terhadap suhu tinggi tidak mengalami kerusakan. Menurut Pramana dan Chairul (2013), proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa

bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, metode ini sangat tepat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas (Rahmah Muthia, 2018).

3.5 Prosedur Uji Parameter spesifik dan non spesifik Ekstrak

a. parameter spesifik

1. Pemeriksaan Makroskopis Pemeriksaan ini untuk meliputi bentuk, warna, bau, dan rasa dari ekstrak.

b. Parameter Non Spesifik

1. Pemeriksaan Kadar Air

Metode ini bekerja diawali dengan cara cawan petri kosong yang dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit, lalu didinginkan dalam desikator selama 15 menit, kemudian ditimbang. Selanjutnya, sampel 5 g dimasukkan ke dalam cawan petri dengan bobot yang sudah diketahui, ditimbang dan dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam dan didinginkan dalam desikator selama 15 menit. Kemudian, cawan petri dan isinya ditimbang. Lakukan selama 5 jam.

3.6 Pembuatan Fraksi *n*-heksana

Ekstrak Kental Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) 10 gram yang telah diencerkan dengan aquadest (polar) sebanyak 100 ml dan tambahkan dengan pelarut *n*-heksan (non polar) 100 ml kedalam corong pisah. Corong pisah lalu dikocok dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan fraksi. Lapisan bawah

(lapisan aquadest) dan lapisan atas (lapisan *n*-heksan) lapisan atas diambil yaitu fraksi *n*-heksan, fraksi *n*-heksan dipisahkan. Kemudian hasil fraksi *n*-

heksan, aquadest diuapkan kembali dengan menggunakan lemari asam sampai didapatkan fraksi kental. (Yansi, dkk 2019)

3.7 Identifikasi Fitokimia fraksi n-heksana

Skiring fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya golongan senyawa aktif dari ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*). Uji fitokimia ini dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa, alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan terpenoid.

a. Uji Alkaloid

Ambil sebanyak 0,5 mL (fraksi) kemudian diambil 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling dan dipanaskan diatas tangas air selama 2 menit dan diinginkan lalu saring. Filtrat dipakai untuk percobaan berikut ini :

1. Diambil 3 tetes filtrat lalu tambahkan 2 tetes peraksi *Mayer* dan menghasilkan endapan putih/kuning.
2. Diambil 3 tetes filtrat kemudian tambahkan 2 tetes peraksi *Dragendorff* dan menghasilkan endpan merah bata.
3. Diambil 3 tetes filtrat kemudian tambahkan 2 tetes peraksi *Bouchardat* dan menghasilkan endapan coklat-hitam.apabila terdapat endapan paling sedikit dengan 2 atau 3 dari pengujian di atas, maka sampel dinyatakan positif mengandung alkoloid (harborne, 1987).

b. Uji Flavonoid

Ambil 0,5 mL (fraksi) masukan kedalam tabung reaksi, lalu tambahkan beberapa tetes NaOH 1%. Perubahan warna dari larutan menjadi kuning menandakan adanya flavonoid (Harborne, 1987).

c. Uji Tanin

Ambil 2 mL (fraksi) masukan kedalam tabung reaksi lalu tambahkan 2 ml etanol 96% kemudian diaduk, tambahkan $FeCl_3$ Sebanyak 3 tetes. Terbentuknya warna biru karakteristik, biru-hitam, hijau atau hijau-hitam dan endapaan menunjukkan adanya tanin.

d. Uji Saponin

Sebanyak 2-3 mL (fraksi) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air panas lalu didinginkan, kemudian dikocok kuatkuat selama 10 detik lalu ditambahkan 1 tetes HCl 2 N. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit (Depkes RI, 1995).

e. Uji Terpenoid

Ambil 2 mL (fraksi) masukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 tetes asetat anhidrat lalu 1 tetes asam sulfat pekat. Uji ini menunjukkan postif golongan senyawa terpenoid dengan terbentuknya warna merah keunguan (Harborne, 1989).

f. Uji Steroid

Sebanyak 2 mL (fraksi) ditambahkan CH_3COOH glasial sebanyak 10 tetes dan H_2SO_4 pekat sebanyak 2 tetes. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Adanya steroid ditunjukkan oleh warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu (Harborne, 1987).

3.8 Uji Penegasan Metabolik Sekunder Dengan KLT

Fase diam yang digunakan pada KLT adalah silika gel GF254 sedangkan fase gerak dan penampang noda sebagai berikut :

1. Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid (Nirwana *et al.*, 2015) Fase gerak : n-Butanol : asam asetat : air (4:1:5)

Penampang noda : Pereaksi semprot alumunium (III) Klorida 5% dalam etanol (Andriani, 2011)

Baku Pembanding : Kuersetin

Jika tampak bercak noda warna kuning kehijauan pada penyemprotan pereaksi alumunium (III) Klorida 5%. Bila tanpa pereaksi kimia, di bawah lampu UV 254 nm, flavonoid akan berfluoresensi biru, kuning atau hijau, tergantung dari strukturnya.

1. Lempeng silika gel F254 merek disiapkan dengan ukuran panjang 10 cm dan lebar 5 cm, silika gel F254 sebagai fase diam dalam analisis KLT digunting untuk lebarnya 5 cm dan panjangnya 10 cm.
2. Pada bagian ujung masing-masing plat KLT diberi garis penanda untuk penotolan sampel dan garis penanda batas elusi pelarut. Jarak setiap garis dengan ujung plat adalah 1 cm
3. Proses selanjutnya sampel hasil fraksi yang telah disiapkan dilarutkan dengan alkohol dan siap ditotolkan pada garis KLT.
4. Sebelum plat dielusi chamber dan pelarut dijenuhkan. komposisi pelarut sebagai fase gerak terdiri dari n-butanol : asam asetat : aquades (4:1:5)
5. Proses selanjutnya setelah chamber mencapai titik jenuh plat KLT dimasukan kedalam chamber dengan posisi miring untuk mempermudah proses elusi. Mekanisme elusi pelarut dibiarkan hingga mencapai garis batas elusi
6. Apabila telah mencapai titik batas elusi pelarut plat dikeluarkan untuk mengamati bercak atau noda yang timbul pada plat KLT. Noda tersebut akan menjadi acuan untuk menentukan jenis senyawa melalui perhitungan nilai RF.
7. Dalam memperjelas warna yang terbentuk pada lempeng KLT maka perlu dilakukan pengamatan dengan lampu UV dipanjang gelombang 366 nm serta penyemprotan peraksi LB

3.9 Pembuatan Larutan uji

a. Pembuatan larutan uji Na CMC 0,5% sebagai control negatif.

Pembuatan suspense Na CMC 0,5% (b/v) dilakukan dengan cara sebagai berikut sebanyak 0,5 gram Na CMC ditaburkan kedalam lumpang yang berisi air panas sebanyak 10 ml didiamkan selama homogen, kemudian dituang kedalam labu ukur 100 ml, ditambahkan aquadest sampai tanda batas (Rikomah, 2019)

b. Pembuatan suspensi karagenan 1%

Karagenan 1% diperoleh dengan mensuspensikan 1 gram karagenan dalam Nacl 0,9% sampai 100 ml dalam beker gelas (Rikomah ,2019)

c. Pembuatan Na Diklofenak

Sebanyak 2 tablet Na Diklofenak (25 mg) digerus sampai halus, kemudian ditimbang sebanyak 8,606 mg serbuk Na diklofenak ini suspensikan ke dalam Na CMC ad 10 ml (Rikomah,2019)

3.10 Penentuan dosis fraksi N-heksan anggur laut (*Caulerpa racemosa*). (Ronal, 2020)

Dari penelitian sebelumnya menggunakan ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) sebanyak 10 gram (jurnal ekstrak anggur laut untuk uji kolesterol) sehingga didapatkan

simplesia kering = 328 gram

Ekstrak = 47,3 gram

Dosis penelitian sebelumnya = 10 gram

Konversi dosis mencit 1 = 3,7 mg

Konversi dosis mencit 2 = 7,4 mg

Konversi dosis mencit 3 = 11,2 mg

3.11 Perkelompokan Hewan uji

Sebelum pengujian, mencit ditimbang terlebih dahulu kemudian masing-masing mencit diberi tanda. Setelah itu, diukur volume awal kaki mencit dengan cara mencelupkan ke dalam alat *platysmometer* digital. Setelah itu sediaan diberikan peroral dengan volume pemberian pada mencit sesuai dengan kelompok perlakuan masing-masing sebagai berikut :

- a. Kelompok I : 5 ekor mencit diberi suspensi Na-CMC 0.5% b/v peroral sebagai kontrol negative
- b. Kelompok II : 5 ekor mencit diberi larutan natrium diklofenak 8,606 mg secara peroral sebagai kontrol positif
- c. Kelompok III : 5 ekor mencit diberi fraksi anggur laut dengan konsentrasi 3,7 mg secara peroral
- d. Kelompok IV : 5 ekor mencit diberi fraksi anggur laut dengan konsentrasi 7,4 mg secara peroral
- e. Kelompok V : 5 ekor mencit diberi fraksi anggur laut dengan konsentrasi 11,2 mg secara peroral

Kemudian tunggu 30 menit kemudian baru disuntikan dengan karagenan 1% untuk diinjeksikan ditelapak kaki mencit. Setelah itu pengukuran dilakukan setiap jam ke 1,2,3,4,5,6 sampai 6 jam.

Perhitungan efek anti inflamasi

$$\text{Persen Radang} = \frac{V_1 \times V_0}{V_0} \times 100\%$$

Keterangan : V_t = Volume radang setelah waktu diinduksi

V_0 = Volume awal kaki mencit

$$\text{b. persen inhibisi radang} = \frac{a-b}{a} \times 100\%$$

keterangan : a = persen radang rata-rata kelompok control negative

b = persen radang rata-rata kelompok perlakuan bahan uji atau obat perbandingan

$$\text{c. persen daya antiinflamasi} = \frac{AUCK - AUCp}{AUCK} \times 100\%$$

keterangan : AUCK = AUC kurva volume udemata rata-rata terhadap waktu control negative

AUCp = AUC kurva volume udemata terhadap waktu untuk kelompok perlakuan pada tiap individu pada tiap individu.

3.13 pengumpulan data

Pengamatan dilakukan setiap jam 1,2,3,4,5 dan 6 diberikan perlakuan pemberian obat. Membandingkan variasi dosis mana yang lebih efektif berkhasiat anti inflamasi diantara beberapa dosis yang diberikan kepada hewan percobaan.

3.14 Analisis data

Data hasil pengamatan diuji homogenitasnya dengan uji statistic dengan menggunakan analisis varian satu arah (*one-way*) pada tingkat kepercayaan 95% untuk mengetahui adanya perbedaan nyata pada setiap perlakuan maka dilakukan uji lanjut Duncan. Menggunakan program *statistical product and solution* (SPSS

DAFTAR PUSTAKA

- A. A. Tia Santika Dewi, Ni M. Puspawati, dan P. S., & Jurusan. (2015). *Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Eter kulit Batang Tenggulun (Protium javanicum Burm) Terhadap Edema Pada Tikus wistar Yang Diinduksi Dengan Karagenan*. 13–19.
- Ario, R., Fachrul, M., Soedarto, J. P., Kampus, S. H., & Tembalang, U. (2015). *Studi Tentang Perbedaan Metode Budidaya Terhadap Pertumbuhan Rumput Laut Caulerpa*. 18(1), 13–19.
- Atum, S. (2014). *Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam*. 53–61.
- Bashar, A. (2020). *Uji Efek Anti-Inflamasi dan ANalgetik (Anacardium occidentale L)*.
- Dkk, Y. (2017). *Kandungan Senyawa Penangkal Sinar Ultra Violet dari Ekstrak Rumput Laut Eucheuma cottonii dan Turbinaria conoides*. 34(2), 51–58. <https://doi.org/10.20884/1.mib.2017.34.2.467>
- Ermawati, D. E., Yugatama, A., & Wulandari, W. (2020). *Uji Sifat Fisik , Sun Protecting Factor , dan In Vivo ZnO Terdispersi dalam Sediaan Nanoemulgel*. 49–60. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v5i1.31660>
- Faruwu, A. R., & Handajani, F. (2020). *Pengaruh Ekstrak Anggur Laut terhadap pH Lambung dan duodenum pada Rattus norvegicus Jantan yang Diinduksi Indometasin Effect of Sea Grape Extract on Gastric and Duodenal pH in Male Rattus norvegicus Induced by Indomethacin*. 2071(September), 170–179.
- Hanani. (2014). *Analisis Fitokima, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta*.
- Harbone. (1987). *Phytochemical Methods A A GUJuide to Modern Techniques of Plant Analysis*.
- Identifikasi Dan Fraksinasi Akar Tebu Hitam (Saccharum officinarum L) Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis*. (2019). 6(1).
- Ines Septiyaningrum, Maya Angraini Fajar Utami, Y. J. (2020). *Indentififikasi Jenis Anggur Laut (Caulerpa sp.) Teluk Sepang Kota Bengkulu*. 10(2), 195–204.
- Miranti, M. R. (2022). *Uji Kandungan Rhodamin B Pada Sediaan Masker Wajah A, B,*

Dan C Yang Beredar Di Kota X Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis. 1–16.

- Novika, D. S., Ahsanunnisa, R., & Yani, F. (2021). *Stannum : Jurnal Sains dan Terapan Kimia Anti-Inflammatory Activity of Ethanol Extract of Starfruit Leaves (Averrhoa bilimbi L .) Against Inhibition of Protein Denaturation Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L .) Terhadap Penghambatan Denaturasi Protein.* 3(1), 16–22. <https://doi.org/10.33019/jstk.v3i1.2117>
- Rahmah Muthia, 2018. (2018). *No KAJIAN POTENSI EKSTRAK ANGGUR LAUT (Caulerpa racemosa) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI Escherichia coli DAN Staphylococcus aureus* StudyTitle. 7(1), 1–26.
- Rahmila Yuni Astika, Fathnur Sani K, E. (2022). *Uji Aktifitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Kayu Manis (Cinnamomum burmanni) Pada Mencit Jantan.* 8(1), 14–23.
- Ramadhani, N., Sumiwi, S. A., Farmasi, F., & Padjadjaran, U. (2016). *Aktivitas Antiinflamasi Berbagai Tanaman Diduga Berasal Dari Flavonoid.* 14, 111–123.
- Ratih, R. A. & H. (2015). *Profil Disolusi Tablet Sustained Release Natrium Diklofenak dengan Menggunakan Matriks Metolose 90 SH 4000.* 01(02), 176–183.
- Rikomah, D. (2019). *Uji Efektifitas Anti inflamasi Ekstrak Kulit Buah Pisang Kepok (Musa acuminata x balbisiana'saga) Pada Mencit Putih Jantan (Mus musculus).* 6(1).
- Ririn. (2015). *Aktifitas Antibakteri dan Antioksidan Fraksi Daun Colocacia esculenta L. Dengan Metode KLT-Bioautografi dan Difenilpikril Hidrazil.* 07(02).
- Ronal, D. (2020). *Peran Ekstrak Anggur Laut terhadap Penurunan Kadar Kolesterol LDL Rattus norvegicus Jantan yang Mendapat Diet Tinggi Lemak.* 17, 192–201.
- Seaweed, M. (2016). *Antimicrobial Action of Compounds from Marine Seaweed.* 1–38. <https://doi.org/10.3390/md14030052>
- Siti Nurul Khotimah, A. M. F. (2017). *Review Artikel beberapa Tumbuhan Yang Mengandung Senyawa Antiinflamasi.* 14, 28–40.
- Teresia, S., Dewi, R., Wahyuni, S., Farmasi, J., Kemenkes, P., Inflamasi, A., & Masalah, R. (2016). *Uji Efek Antiinflamasi rebusan Daun Jamblang (Syzygium cumini) Pada Mencit (Mus musculus).* 53–59.

Yudasmara, G. A. (2014). *Budidaya Anggur Laut (Caulerpa racemosa) Melalui Media Tanam Rigid Quadrant Nets Berbahan Bambu*. 3(2).