

**UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL
AKAR BIDURI (*Calotropis gigantea* L.) DENGAN METODE
STABILISASI MEMBRAN ERITROSIT DAN PENETAPAN
ALKALOID SERTA TANIN TOTAL**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Farmasi (S.Farm.) di bidang studi Farmasi pada Fakultas MIPA**



Oleh :

DELLA NOVIE-ROSETA

08121006037

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

2016

5
615. 107 240 7

Del.

0

2016

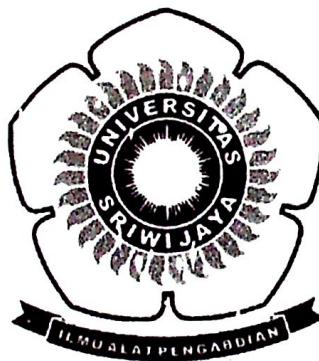
20741/21307

**UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL
AKAR BIDURI (*Calotropis gigantea* L.) DENGAN METODE
STABILISASI MEMBRAN ERITROSIT DAN PENETAPAN
ALKALOID SERTA TANIN TOTAL**



SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Farmasi (S.Farm.) di bidang studi Farmasi pada Fakultas MIPA**



Oleh :

DELLA NOVIE ROSETA

08121006037

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

2016

HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL

Judul Makalah : UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL
AKAR BIDURI (*Calotropis gigantea* L.) DENGAN
METODE STABILISASI MEMBRAN ERITROSIT DAN
PENETAPAN ALKALOID SERTA TANIN TOTAL

Nama Mahasiswa : DELLA NOVIE ROSETA

NIM : 08121006037

Program Studi : FARMASI

Telah dipertahankan di hadapan Pembimbing dan Pembahas pada Seminar Hasil di Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 27 September 2016 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 10 Oktober 2016

Pembimbing :

1. Fitrya, M.Si., Apt.

NIP. 197212101999032001

2. Shaum Shiyon, M.Sc., Apt.

NIP. 198605282012121005

Pembahas :

1. Herlina, M.Kes., Apt.

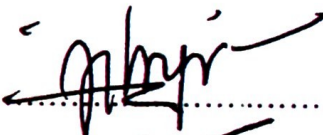
NIP. 197107031998022001

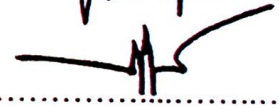
2. Rennie Puspa Novita, M.Farm.Klin., Apt.

NIPUS. 198711272015107201

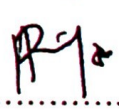
3. Yosua Maranatha Sihotang, M.Si., Apt.

NIK. 1671071509900014

(..........)

(..........)

(..........)

(..........)

(..........)

Mengetahui

Ketua Program Studi Farmasi
Fakultas MIPA, UNSRI



Dr. rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.
NIP. 197103101998021002

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL
AKAR BIDURI (*Calotropis gigantea* L.) DENGAN
METODE STABILISASI MEMBRAN ERITROSIT DAN
PENETAPAN ALKALOID SERTA TANIN TOTAL

Nama Mahasiswa : DELLA NOVIE ROSETA

NIM : 08121006037

Program Studi : FARMASI

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Sidang Ujian Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Sriwijaya pada tanggal 21 Oktober 2016 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 24 Oktober 2016

Ketua :

1. Herlina, M.Kes., Apt.

NIP. 197107031998022001

(.....)

Anggota :

1. Dr. Budi Untari, M.Si., Apt.

NIP. 195810261987032002

(.....)

2. Najma Annuria Fithri, M.Sc., Apt.

NIP. 198803252015042002

(.....)

3. Indah Solihah, M.Sc., Apt.

NIPUS. 198803082015107201

(.....)

4. Nikita Surya Dharma, M.Farm., Apt.

NIPUS. 199004272015107201

(.....)

Mengetahui

Ketua Program Studi Farmasi
Fakultas MIPA, UNSRI



Dr. Irat. Mardiyanto, M.Si., Apt.

NIP. 197103101998021002

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Della Novie Roseta
NIM : 08121006037
Fakultas/Program Studi : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Farmasi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain.

Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Inderalaya, Oktober 2016
Penulis,



Handwritten signature of Della Novie Roseta.

Della Novie Roseta
NIM. 08121006037

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama Mahasiswi : Della Novie Roseta
NIM : 08121006037
Fakultas/Program Studi : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Farmasi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “hak bebas royalti non-eksklusif” (*non-exclusively royalty-free right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul: “Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Akar Biduri (*Calotropis gigantea* L.) dengan Metode Stabilisasi Membran Eritrosit dan Penetapan Alkaloid serta Tanin Total” beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini, Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalihmedia/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Inderalaya, Oktober 2016
Penulis,



Della Novie Roseta
NIM. 08121006037

HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO



(Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang)

*“Dan tidak ada taufik (kesuksesan) bagiku melainkan dengan (Pertolongan) Allah.”
(Q.S. Al-Hud: 88)*

“Allah tidak memikulkan beban kepada seseorang melainkan (sekadar) apa yang Allah berikan kepadanya. Allah kelak akan memberikan kelapangan sesudah kesempitan.” (Q.S. Ath-Thalaq: 7)

Alhamdulillahillobbilalamin

*Sebuah perjuangan yang penuh rintangan telah ku lewati
Perjuangan yang merupakan titik awal dari kehidupan yang
sebenarnya*

*Saya persembahkan skripsi ini untuk Mama, Papa, dan Adikku
tercinta, perpisahan bukanlah sebuah hambatan bagi ku untuk
tetap semangat dan semua yang telah kita lewati memberi ku
kekuatan terbesar untuk terus berjuang menggapai cita-cita ini.
Serta saya persembahkan skripsi ini untuk keluarga, sahabat, dan
teman-teman seperjuangan farmasi 2012.*

*“You’re braver than you believe, stronger than you seem, and smarter than you
think.” - A.A. Milne -*

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah, Tuhan Semesta Alam yang atas rahmat dan karunia-Nyalah sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Akar Biduri (*Calotropis gigantea* L.) dengan Metode Stabilisasi Membran Eritrosit dan Penetapan Alkaloid serta Tanin Total”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat mendapatkan gelar Sarjana Farmasi di program studi Farmasi pada Fakultas MIPA Universitas Sriwijaya. Selain itu, skripsi ini ditulis untuk memberikan informasi mengenai potensi akar biduri sebagai antiinflamasi alami.

Penulis menyadari bahwa dalam penelitian maupun penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Papa (Danhill Eka Putra) dan Mama (Erliana Hastuti) tercinta yang selalu memberikan limpahan kasih sayang serta do'a, nasihat, perhatian, semangat, dan dukungan moril maupun materil. Adikku (Dave) tersayang yang selalu memberikan keceriaan saat menjalani masa-masa sulit bersama.
2. Rektor Universitas Sriwijaya dan Dekan Fakultas MIPA serta Ketua Program Studi Farmasi atas sarana dan prasarana yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik dan lancar.
3. Fitriya, M.Si., Apt. sebagai dosen pembimbing pertama serta Shaum Shiyan, M.Sc., Apt. sebagai dosen pembimbing kedua yang telah bersedia meluangkan waktu dan kesabaran dalam membimbing, memberikan ilmu, arahan, bantuan, motivasi, serta kepercayaan kepada saya dalam menyelesaikan penelitian serta penulisan skripsi ini.
4. Akrimah, M.Si. dan Laida Neti Mulyani, M.Si. selaku pembimbing akademik yang telah memberikan arahan, wawasan, motivasi, dan perhatian dari awal perkuliahan sampai saya berhasil menyelesaikan skripsi ini.
5. Herlina, M.Kes., Apt., Laida Neti Mulyani, M.Si., Indah Solihah, M.Sc., Apt., Rennie Puspa Novita, M.Farm.Klin., Apt., dan Yosua Maranatha Sihotang, M.Si., Apt. selaku dosen pembahas yang telah memberikan banyak saran dalam perbaikan penulisan skripsi ini.

6. Seluruh dosen, staf, dan analis Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sriwijaya yang telah memberikan pengetahuan, wawasan, dan bantuan dalam studi sehingga penulis bisa menyelesaikan studi dengan baik dan lancar.
7. Monik, Tebie, Oma, Datuk, Nenek, dan keluarga yang telah memberikan bantuan moril maupun materil serta dukungan selama penyusunan skripsi ini.
6. My one and only (M. Bugar Palmendo) yang telah berperan sebagai sahabat serta kakak yang selalu menemani saat suka maupun duka, memberikan canda dan tawa, motivasi, bantuan, serta mendengarkan keluh kesah dari awal perkuliahan hingga terselesaikannya skripsi ini.
7. Sahabat kecilku (Nuzi, Aulia, dan Nisa) dan sahabat seperjuanganku CG (Nia, Indah, Ita, Hasti, Bella, Melvi, Nisa, dan Bunga) yang selalu mendengarkan curahan hati, menjadi tempat berbagi ilmu, memberikan arti kebersamaan, nasihat, masukan, semangat, perhatian, keceriaan, serta bantuan hingga terselesaikannya skripsi ini.
8. Partner akar biduri (Hasti), partner lab (Mami dan Kak Sebu), dan Yadin yang telah memberikan banyak bantuan saat penelitian dan penyusunan skripsi.
9. Teman-teman seperjuangan farmasi 2012, kakak-kakak farmasi 2011 serta adik-adik farmasi 2013 hingga 2016 yang telah memberikan canda tawa, suka duka, inspirasi, semangat, bantuan, serta kenangan selama perkuliahan.

Penulis sangat bersyukur dan berterima kasih atas segala kebaikan, bantuan, dukungan, dan motivasi yang diberikan dari semua pihak yang telah membantu selama penelitian dan penyusunan skripsi ini. Semoga Allah memberkahi dan membalas setiap kebaikan semua pihak yang membantu. Penulis menyadari dalam penulisan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan dimasa yang akan datang. Semoga skripsi ini dapat memberikan banyak manfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan.

Inderalaya, Oktober 2016
Penulis



Della Novie Roseta
08121006037

Antiinflammatory Activity Test of Ethanol Extract from *Calotropis gigantea* L. Roots by Erythrocyte Membrane Stabilization Method and Determination of Total Alkaloids and Tannins

**Della Novie Roseta
08121006037**

ABSTRACT

Inflammation occurs due damage on the cell membrane level that causes lysosome on leukocytes to release lysosomal enzymes. Release of lysosomal enzymes can be inhibited by stabilization of lysosomal membrane. *Calotropis gigantea* L. roots contain alkaloids and tannins that potentially have membrane stabilizing activity. This study aims to look effectiveness of antiinflammatory ethanol extract from *C.gigantea* roots through in vitro stabilization of erythrocyte membranes and determine the total alkaloids and tannins of the extracts. Erythrocyte used as an experimental model because it is similar to the structure of lysosomes. Membrane stabilizing effect is determined by spectrophotometry based on decrease of hemoglobin absorbance at a wavelength 575 nm. Determination of activity of the extracts conducted at various concentration that is 50, 100, 200, 500, and 1000 ppm compared to diclofenac sodium as a positive control. The test result showed inhibition of hemolysis by the extract through the stabilization of erythrocyte membranes with IC₅₀ value of 76,17 ppm. Based on statistical analysis of IC₅₀ values using independent sample t-test, ethanol extract of *C.gigantea* roots has antiinflammatory activity which is significantly different ($p < 0,05$) with diclofenac sodium. Total alkaloids and tannins content of ethanol extract from *C.gigantea* roots is determined by spectrophotometry each using bromocresol green (BCG) and Folin-Ciocalteu methods. Results showed total alkaloids content of 12,08 mg AE/g extract and tannins content of 31,02 mg TAE/g extract.

Keyword(s): *Calotropis gigantea* L. roots, antiinflammatory, membrane stabilization, total alkaloids, total tannins

Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Akar Biduri (*Calotropis gigantea* L.) dengan Metode Stabilisasi Membran Eritrosit dan Penetapan Alkaloid serta Tanin Total

**Della Novie Roseta
08121006037**

ABSTRAK

Inflamasi terjadi akibat kerusakan sel pada tingkat membran yang menyebabkan lisosom pada leukosit melepaskan enzim lisosom. Pelepasan enzim lisosom tersebut dapat dihambat melalui stabilisasi membran lisosom. Akar biduri (*Calotropis gigantea* L.) mengandung senyawa alkaloid dan tanin yang berpotensi memiliki aktivitas stabilisasi membran. Penelitian ini bertujuan untuk melihat efektivitas antiinflamasi ekstrak etanol akar biduri melalui stabilisasi membran eritrosit secara *in vitro* serta menentukan total alkaloid dan tanin ekstrak. Eritrosit digunakan sebagai model percobaan karena mirip dengan struktur lisosom. Aktivitas stabilisasi membran ditentukan secara spektrofotometri berdasarkan penurunan absorbansi hemoglobin pada panjang gelombang 575 nm. Penentuan aktivitas ekstrak dilakukan pada variasi konsentrasi yaitu 50, 100, 200, 500, dan 1000 ppm yang dibandingkan terhadap natrium diklofenak sebagai kontrol positif. Hasil pengujian menunjukkan adanya penghambatan hemolisis oleh ekstrak melalui stabilisasi membran eritrosit dengan nilai IC_{50} sebesar 76,17 ppm. Berdasarkan analisis statistik nilai IC_{50} menggunakan *independent sample t-test*, ekstrak etanol akar biduri memiliki aktivitas antiinflamasi yang berbeda signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan natrium diklofenak. Kandungan alkaloid dan tanin total ekstrak etanol akar biduri ditentukan secara spektrofotometri masing-masing menggunakan metode *bromocresol green* (BCG) dan Folin-Ciocalteu. Hasil menunjukkan kandungan alkaloid total sebesar 12,08 mg AE/g ekstrak dan tanin total sebesar 31,02 mg TAE/g ekstrak.

Kata kunci: Akar *Calotropis gigantea* L., antiinflamasi, stabilisasi membran, alkaloid total, tanin total

DAFTAR ISI

Halaman

| | |
|--|------|
| HALAMAN JUDUL..... | i |
| HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH HASIL | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI..... | iii |
| HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH..... | iv |
| HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS..... | v |
| HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO..... | vi |
| KATA PENGANTAR..... | vii |
| ABSTRACT..... | ix |
| ABSTRAK | x |
| DAFTAR ISI | xi |
| DAFTAR SINGKATAN | xiii |
| DAFTAR TABEL..... | xiv |
| DAFTAR GAMBAR | xv |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvi |
| | |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | 3 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 4 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 5 |
| 2.1 Tumbuhan Biduri (<i>Calotropis gigantea</i> L.) | 5 |
| 2.2 Kandungan Kimia Biduri | 7 |
| 2.3 Efek Farmakologi Biduri..... | 7 |
| 2.4 Inflamasi..... | 8 |
| 2.5 Metode Uji Aktivitas Antiinflamasi Secara <i>In Vitro</i> | 10 |
| 2.5.1 Metode Stabilisasi Membran Eritrosit..... | 11 |
| 2.6 Senyawa Alkaloid Sebagai Agen Antiinflamasi dan Penetapan Kandungan Total | 13 |
| 2.7 Senyawa Tanin Sebagai Agen Antiinflamasi dan Penetapan Kandungan Total | 15 |
| BAB III METODOLOGI PENELITIAN..... | 17 |
| 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian..... | 17 |
| 3.2 Alat dan Bahan | 17 |
| 3.2.1 Alat..... | 17 |
| 3.2.2 Bahan | 17 |
| 3.3 Prosedur Penelitian | 18 |
| 3.3.1 Preparasi Ekstrak Etanol Akar Biduri | 18 |
| 3.3.2 Penapisan Fitokimia | 18 |
| 3.3.2.1 Identifikasi Alkaloid..... | 18 |
| 3.3.2.2 Identifikasi Flavonoid | 19 |
| 3.3.2.3 Identifikasi Tanin | 19 |

| | | |
|----------------------------------|---|-----------|
| 3.3.2.4 | Identifikasi Steroid | 19 |
| 3.3.3 | Uji Kualitatif Ekstrak dengan KLT | 19 |
| 3.3.4 | Penetapan Kandungan Alkaloid Total | 20 |
| 3.3.4.1 | Pembuatan Larutan Standar Atropin..... | 20 |
| 3.3.4.2 | Pembuatan Larutan Uji..... | 20 |
| 3.3.4.3 | Penetapan Kandungan Alkaloid Total Sampel | 20 |
| 3.3.5 | Penetapan Kandungan Tanin Total..... | 21 |
| 3.3.5.1 | Pembuatan Larutan Standar Asam Tanat..... | 21 |
| 3.3.5.2 | Pembuatan Larutan Uji..... | 21 |
| 3.3.5.3 | Penetapan Kandungan Tanin Total Sampel | 22 |
| 3.3.6 | Pengujian Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Stabilisasi Membran Eritrosit | 22 |
| 3.3.6.1 | Pembuatan Suspensi Eritrosit 10% | 22 |
| 3.3.6.2 | Pembuatan Larutan Uji dan Pembanding Natrium Diklofenak..... | 23 |
| 3.3.6.3 | Pengujian Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak dan Pembanding Natrium Diklofenak | 23 |
| 3.4.7 | Analisis Data | 24 |
| BAB IV | HASIL DAN PEMBAHASAN | 25 |
| 4.1 | Determinasi Tumbuhan Biduri..... | 25 |
| 4.2 | Ekstraksi Akar Biduri..... | 25 |
| 4.3 | Penapisan Fitokimia Ekstrak..... | 28 |
| 4.4 | Uji Kualitatif Ekstrak dengan KLT | 30 |
| 4.5 | Penetapan Total Alkaloid Ekstrak | 32 |
| 4.6 | Penetapan Total Tanin Ekstrak | 35 |
| 4.7 | Uji Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Stabilisasi Membran Eritrosit..... | 38 |
| BAB V | KESIMPULAN DAN SARAN..... | 46 |
| 5.1 | Kesimpulan | 46 |
| 5.2 | Saran..... | 46 |
| DAFTAR PUSTAKA | | 47 |
| LAMPIRAN..... | | 54 |
| DAFTAR RIWAYAT HIDUP..... | | 78 |

DAFTAR SINGKATAN

| | |
|------|--|
| AE | : <i>Atropine Equivalent</i> |
| AINS | : <i>Antiinflamasi Non Steroid</i> |
| ATP | : <i>Adenosine Triphosphate</i> |
| BCG | : <i>Bromocresol Green</i> |
| cAMP | : <i>Cyclic Adenosine Monophosphate</i> |
| COX | : <i>Cyclooxygenase</i> |
| KLT | : <i>Kromatografi Lapis Tipis</i> |
| IC | : <i>Inhibition Concentration</i> |
| iNOS | : <i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i> |
| LOG | : <i>Logaritma</i> |
| LT | : <i>Leukotrin</i> |
| NO | : <i>Nitric Oxide</i> |
| PG | : <i>Prostaglandin</i> |
| R | : <i>Regresi</i> |
| ROS | : <i>Reactive Oxygen Species</i> |
| TAE | : <i>Tannic Acid Equivalent</i> |
| UV | : <i>Ultraviolet</i> |
| Vis | : <i>Visible</i> |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|--|---------|
| Tabel 1. Uji Kualitatif Ekstrak dengan KLT..... | 20 |
| Tabel 2. Kelompok Larutan Pengujian Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Stabilisasi Membran Eritrosit | 23 |
| Tabel 3. Karakteristik Ekstrak Etanol Akar Biduri | 27 |
| Tabel 4. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak | 28 |
| Tabel 5. Hasil Pengukuran Absorbansi Kompleks dan Total Tanin Ekstrak Etanol Akar Biduri pada 1000 ppm | 38 |
| Tabel 6. Persen Inhibisi Hemolisis Natrium Diklofenak dan Ekstrak pada Berbagai Konsentrasi dan Nilai IC ₅₀ | 42 |

DAFTAR GAMBAR

Halaman

| | |
|--|----|
| Gambar 1. Tumbuhan Biduri (<i>Calotropis gigantea</i> L.) | 6 |
| Gambar 2. Senyawa Kimia yang Telah Diisolasi dari Ekstrak Akar Biduri..... | 7 |
| Gambar 3. Bagan Mekanisme Terjadinya Inflamasi..... | 10 |
| Gambar 4. Akar Biduri (<i>Calotropis gigantea</i> L.) | 25 |
| Gambar 5. Reaksi Alkaloid dengan Reagen Mayer | 29 |
| Gambar 6. Reaksi Alkaloid dengan Reagen Wagner | 29 |
| Gambar 7. Reaksi Alkaloid dengan Reagen Dragendorff..... | 29 |
| Gambar 8. Reaksi Tanin dengan Pereaksi FeCl ₃ | 29 |
| Gambar 9. Hasil Uji Kualitatif KLT Senyawa Alkaloid pada Ekstrak | 31 |
| Gambar 10. Hasil Uji Kualitatif KLT Senyawa Tanin pada Ekstrak..... | 31 |
| Gambar 11. Reaksi Perubahan BCG dalam Larutan..... | 32 |
| Gambar 12. Mekanisme Reaksi Pembentukan Kompleks Atropin-BCG | 33 |
| Gambar 13. Kurva Standar Kompleks Atropin-BCG | 34 |
| Gambar 14. Mekanisme Reaksi Pembentukan Kompleks oleh Pereaksi Folin- Ciocalteu | 36 |
| Gambar 15. Kurva Standar Kompleks pada Standar Asam Tanat | 37 |
| Gambar 16. Hasil Pengamatan Eritrosit Kelompok Larutan | 40 |
| Gambar 17. Kurva Hubungan Log Konsentrasi dan Nilai Probit | 44 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|---|---------|
| Lampiran 1. Hasil Determinasi Tumbuhan Biduri..... | 54 |
| Lampiran 2. Skema Kerja Umum | 55 |
| Lampiran 3. Diagram Alir Uji Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Stabilisasi Membran Eritrosit..... | 56 |
| Lampiran 4. Perhitungan Nilai Rendemen Ekstrak Etanol Akar Biduri..... | 57 |
| Lampiran 5. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Kompleks Atropin-BCG | 58 |
| Lampiran 6. Perhitungan Total Alkaloid Ekstrak Etanol Akar Biduri..... | 59 |
| Lampiran 7. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Kompleks pada Standar Asam Tanat..... | 61 |
| Lampiran 8. Perhitungan Total Tanin Ekstrak Etanol Akar Biduri | 62 |
| Lampiran 9. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Hemoglobin .. | 64 |
| Lampiran 10. Perhitungan Persen Inhibisi Hemolisis Kontrol Positif Natrium Diklofenak dan Ekstrak Etanol Akar Biduri..... | 65 |
| Lampiran 11. Cara Pembacaan Finney's <i>Probit Table</i> | 69 |
| Lampiran 12. Perhitungan Nilai IC ₅₀ Natrium Diklofenak dan Ekstrak Etanol Akar Biduri | 70 |
| Lampiran 13. Hasil Analisis Statistik..... | 71 |
| Lampiran 14. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak..... | 75 |
| Lampiran 15. Hasil Uji Kualitatif Ekstrak dengan KLT | 76 |
| Lampiran 16. Dokumentasi Penelitian | 77 |



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Inflamasi terjadi akibat kerusakan sel pada tingkat membran yang menyebabkan lisosom pada leukosit melepaskan enzim lisosom serta asam arakidonat yang berperan dalam pembentukan mediator inflamasi penting seperti prostaglandin (Katzung, 2010). Chippada *et al.* (2011) menyatakan bahwa enzim lisosom yang dilepaskan selama inflamasi menyebabkan berbagai gangguan pada jaringan yang dianggap bertanggung jawab pada kondisi patologis terutama pada rheumatoid arthritis. Stabilisasi membran lisosom sangatlah diperlukan untuk membatasi respon inflamasi. Melalui stabilisasi ini, pelepasan enzim lisosom akan dihambat sehingga dapat mencegah peradangan jaringan lebih lanjut (Rajendran *and* Lakshmi, 2008).

Sel darah merah (eritrosit) manusia telah banyak digunakan dalam studi interaksi obat dengan membran. Struktur eritrosit mirip dengan struktur lisosom sehingga stabilisasi terhadap membran eritrosit diharapkan juga mampu menstabilisasi membran lisosom (Balamurugan *et al.*, 2010). Aktivitas stabilisasi membran ini dapat dijadikan penilaian terhadap aktivitas antiinflamasi senyawa obat maupun ekstrak tumbuhan secara *in vitro*. Metode ini lebih sering digunakan karena lebih sederhana dan pengerjaan yang lebih cepat (Oyedapo *et al.*, 2010).

Kelompok obat yang banyak diberikan dalam pengobatan inflamasi adalah obat antiinflamasi non steroid (AINS). Selain menghambat langsung enzim COX, obat AINS diketahui juga memiliki aktivitas stabilisasi membran (Althaf *et al.*, 2013). Akan tetapi, menurut Longo *et al.* (2011) penggunaan obat AINS dalam

jangka panjang atau dosis tinggi dapat menimbulkan beberapa efek samping yang merugikan tubuh. Efek terapi obat AINS dalam penghambatan enzim COX-1 dapat menyebabkan efek samping pada saluran cerna dan penghambatan pada enzim (COX-2) dapat menyebabkan efek samping pada sistem kardiovaskular. Sebagai alternatif untuk mengurangi risiko efek samping yang ditimbulkan maka digunakan tumbuhan berkhasiat obat.

Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai agen antiinflamasi adalah tumbuhan biduri (*Calotropis gigantea* L.). Menurut Joseph *et al.* (2013) akar biduri telah digunakan secara tradisional di India untuk penyembuhan luka dan penyakit asma yang disebabkan inflamasi. Namun di Indonesia hingga saat ini belum banyak dimanfaatkan, bahkan pada beberapa daerah dianggap sebagai gulma (Witono dan Yuli, 2008). Aktivitas antiinflamasi dari akar biduri juga telah dibuktikan secara ilmiah melalui penelitian Bulani *et al.* (2011) secara *in vivo*. Penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak metanol akar biduri dengan dosis 200 dan 400 mg/kg mampu menurunkan inflamasi saluran napas dan edema kaki pada tikus wistar jantan secara signifikan. Akan tetapi, mekanisme dari aktivitas antiinflamasi dari ekstrak tersebut belum diketahui secara pasti.

Hasil analisis fitokimia yang dilakukan Kori *and* Alawa (2014) terhadap beberapa ekstrak akar biduri menunjukkan adanya kandungan alkaloid dan glikosida yang tinggi, selain itu juga terdapat kandungan tanin, saponin serta flavonoid. Alkaloid dan tanin diketahui memiliki kemampuan dalam menghambat sinyal pembentukan molekul pro-inflamasi seperti prostaglandin atau leukotrien (Polya, 2003). Penelitian Oyedapo *et al.* (2010) menyatakan bahwa alkaloid dan tanin termasuk senyawa yang berperan dalam aktivitas stabilisasi membran.

Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian terhadap aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol akar biduri secara *in vitro* dengan metode stabilisasi membran eritrosit. Diharapkan ekstrak ini memiliki aktivitas antiinflamasi melalui mekanisme stabilisasi membran yang dibandingkan dengan obat standar natrium diklofenak. Selanjutnya dilakukan penetapan total alkaloid dan tanin dalam ekstrak etanol akar biduri yang berpotensi sebagai agen antiinflamasi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol akar biduri memiliki aktivitas antiinflamasi berdasarkan kemampuan dalam menstabilisasi membran eritrosit?
2. Berapakah nilai IC_{50} aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol akar biduri?
3. Berapakah total alkaloid dan tanin dari ekstrak etanol akar biduri?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol akar biduri berdasarkan kemampuan dalam menstabilisasi membran eritrosit.
2. Menentukan nilai IC_{50} aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol akar biduri.
3. Menentukan total alkaloid dan tanin dari ekstrak etanol akar biduri.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan informasi secara ilmiah mengenai aktivitas antiinflamasi dari akar biduri (*Calotropis gigantea* L.) sebagai alternatif dalam terapi inflamasi. Uji aktivitas ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan dasar bagi peneliti lanjutan serta bagi bidang farmasi bahan alam dalam upaya pengembangan senyawa aktif antiinflamasi yang potensial khususnya dari tumbuhan biduri.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeniyi, S.A., Orjiekwe, C.L. & Ehiagbonare, J.E. 2009, Determination of alkaloids and oxalates in some selected food samples in Nigeria, *African J Biotech*, **8(1)**: 110-112.
- Agromedia. 2008, *Buku pintar tanaman obat: 431 jenis tanaman penggempur aneka penyakit*, PT Agromedia Pustaka, Jakarta, Indonesia.
- Althaf, M., Sudaroli, M. & Mohammed, S.I. 2013, In vitro anti-inflammatory activity of *Vitex leucoxydon* Linn. leaves by HRBC membrane stabilization, *Int J Pharm Life Sci*, **4(1)**: 2278-2281.
- Amorim, E., Nascimento, J., Monteiro, J., Sobrinho, T., Araujo, T. & Albuquerque, U. 2008, Simple and accurate procedure for the determination of tannin and flavonoid levels and some applications in ethnobotany and ethnopharmacology, *Functional Ecosystems and Communities*, **2(1)**: 88-94.
- Arista, M. 2013, Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 80% dan 90% daun katuk (*Sauropus androgynous* (L.) Merr.), *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, **2(2)**: 1-16.
- Balamurugan, G., SupriyaSajja, Balakrishnan, D. & Selvarajan, S. 2010, In vitro anti-inflammatory action of *Erythrina variegata* (L.) leaves by HRBC membrane stabilization, *Int J Drug Dev Res*, **2(3)**: 669-672.
- Bhutani, K.K. 2000, Fingerprintings of ayurvedic drugs, *Eastern Pharmacist*, **5**: 21-24.
- Biljsma, A. 1990, The long-term efficacy and tolerability of voltaren (diclofenac sodium) and indomethacin in rheumatoid arthritis, *Scand J Rheumatol Suppl*, **22**: 74-80.
- Blainski, A., Lopes, G.C. & Melo, J.C. 2013, Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium Brasiliense* L., *Molecules*, **18**: 6852-6865.
- Bizuayehu, D., Atlabachew, M. & Ali, M.T. 2016, Determination of some selected secondary metabolites and their invitro antioxidant activity in commercially available Ethiopian tea (*Camellia sinensis*), *SpringerPlus*, **5(412)**: 1-9.
- Boulali, E.D., Sellam, K., Bammou, M., Alem, C. & Filali-Zehzouti, Y. 2016, In vitro Antioxidant and anti-inflammatory properties of selected Moroccan medicinal plants, *J Appl Pharm Sci*, **6(5)**: 156-162.
- Bulani, V., Biyani, K., Kale, R., Joshi, U., Charhate, K., Kumar, D., et al. 2011, Inhibitory effect of *Calotropis gigantea* extract on ovalbumin - induced

airway inflammation and arachidonic acid induced inflammation in a murine model of asthma, *Int J Cur Bio Med Sci*, **1(2)**: 19-25.

- Chippada, S.C., Volluri, S.S., Bammidi, S.R. & Vangalapati, M. 2011, In vitro anti inflammatory activity of methanolic extract of *Centella asiatica* by HRBC membrane stabilization, *Rasayan J Chem*, **4(2)**: 457-460.
- Corwin & Elizabeth, J. 2008, *Handbook of pathophysiology*, 3rd edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, US.
- Crowley, L.V. 2013, *An introduction to human disease: Pathology and pathophysiology correlations*, 9th Edition, Jones & Barlet Learning, US.
- Dalimartha, S. 2000, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Volume 2, Trubus Agriwidya, Jakarta, Indonesia.
- Deshmukh, P.T., Fernandes, J., Atul, A. & Toppo, E. 2009, Wound healing activity of *Calotropis gigantea* root bark in rats, *J Ethnopharm*, **125**: 178-181.
- Dewick, P.M. 2002, *Medicinal natural product: a biosynthetic approach*, 2nd edition, John Willey & Sons, New York, US.
- Dharsana, J.N. & Mathew Sr, M. 2015, Anti-inflammatory activity of *Morinda umbellate* by membrane stabilization method, *Int J Pharm Bio Sci*, **6(1)**: 349-353.
- Distantitana, Sperisa, Fadilah, Endah, R., Dyartanti & Enny K.A. 2007, Pengaruh rasio berat rumput laut-pelarut terhadap ekstraksi agar-agar, *Jurnal Ekuilibrium*, **6(2)**: 53-58.
- Elakkiya, P. & Prasanna, G. 2012, A study on phytochemical screening and invitro antioxidant activity of *Calotropis gigantea* L., *Int J Pharmtech Res*, **4**: 1428-1431.
- Erdelyi, K., Kiss, A., Bakondi, E., Bai, P., Szabo, C., Gergely, P., et al, 2005, Gallotannin inhibits the expression of chemokines and inflammatory cytokines in A549 cells, *Mol Pharmacol*, **68**: 895-904.
- Falcao, H., Jesus, N., Gomes, I., Lelte, T., Lima, G., Barbosa-Filho, J., et al. 2012, Tannins, peptic ulcers and related mechanisms, *Int J Mol Sci*, **13**: 3203-3228.
- Ferreira, H., Lucio, M., De Castro, B., Gameiro, P., Lima, J.L. & Reis, S. 2003, Partition and location of nimesulide in EPC liposomes: a spectrophotometric and fluorescence study, *Anal Bioanal Chem*, **377**: 293-8.
- Filho, M. 2006, *Bioactive phytochemicals: New approaches in the phytosciences in modern phytomedicine*, Wiley-VCH, Germany.

- Gorski, A., Krotkiewski, H. & Zimecki, M. 2001, *Inflammation*, Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Netherlands.
- Hagerman, A.E., Zhao, Y. & Johnson, S. 2002, *Methods for determination of condensed and hydrolysable tannins*, American Chemical Society, Washington D.C, US.
- Harborne, J.B. 1996, *Metode Fitokimia*, terbitan ke-2, diterjemahkan dari Bahasa Inggris oleh Padmawinata, K., Penerbit ITB, Bandung.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., Williamso, E.M. 2004, *Fundamental of pharmacognosy and phytotherapy*. Elsevier Publisher, Hungaria.
- Ho, C., Mussinan, C., Shahidi, F. & Contis, E.T. 2013, *Nutrition, functional, and sensory properties of foods*, RSC Publishing, London, UK.
- Hossain, M.M., Ahamed, S.K., Dewan, S.M., Hassan, M.M., Istiaq, A., Islam, M.S., *et al.* 2014, In vivo antipyretic, antiemetic, in vitro membrane stabilization, antimicrobial, and cytotoxic activities of different extracts from *Spilanthes paniculata* leaves, *Bio Res*, 47: 45.
- Integrated Taxonomic Information System (ITIS). 2015, Taxonomic of *Calotropis gigantea* (L.) W.T.Aiton, diakses pada tanggal 6 Desember 2015, <http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRptsearch_topic=TSN&search_value=506010>.
- Joseph, B., George, J., Jeevitha, M.V. & Charles, S. 2013, Pharmacological and biological overview on *Calotropis gigantean*: a comprehensive review, *Int Res J Pharm App Sci*, 3(5): 219-223.
- Kadiyala, M., Ponnusankar, S. & Elango, K. 2013, *Calotropis gigantea* (L.) R. Br (Apocynaceae): a phytochemical and pharmacological review, *J Ethnopharm*, 150(1): 32-50.
- Kalaiselvi, V. & Vidhya, R. 2015, In-vitro membrane stabilizing activity of different extracts of *Bahinia tomentosa* (L.) leaves, *World J Pharm Res*, 4(4): 1700-1715.
- Kar, B, Kumar., S., Karmakar, I., Dolai, N., Bala, A., Mazumder, U.K., *et al.* 2012, Antioxidant and in vitro anti-inflammatory activities of *Mimusops elengi* leaves, *Asian Pac J Trop Biomed*, S976-S980.
- Karunanithi M.C., David R.M., Jagadeesan & Kavimani, S. 2012, Effect of molecular weight and NaCl concentration on dilute solution properties of chitosan, *J Food Sci*, 2(1): 1-5.
- Katno. 2008, *Pengelolaan pasca panen tanaman obat*, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Tawangmangu, Indonesia.

- Katzung, B.G. 2010, *Farmakologi dasar dan klinik*, edisi X, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, Indonesia.
- Kaur, K., Kumar, D. & Kumar, S. 2014, Screening of neuropharmacological activities of *Calotropis gigantea* roots, *J Pharm Chem Bio Sci*, **2**: 186-196.
- Kee, J.L. & Hayes E.R. 1996, *Farmakologi pendekatan proses keperawatan*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, Indonesia.
- Kong, A. 2014, Inflammation, oxidative stress, and cancer: Dietary approaches for cancer, CRC Press, London, UK.
- Kori, P. & Alawa, P. 2014, Antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Calotropis gigantea* root, latex extracts, *IOSR J Pharm*, **4(6)**: 7-11.
- Kumar, V., Zulfiqar, A.B., Dinesh, K., Khan, N.A., Chashoo, L.A. & Shah, M.Y. 2012, Evaluation of anti-inflammatory potential of petal extracts of *Crocus sativus* "Cashmerianus", *Int J Phytopharm*, **3(1)**: 27-31.
- Kumar, P.S., Suresh, E. & Kalavathy, S. 2013, Review on a potential herb *Calotropis gigantea* (L.) R. Br., *Sch Acad J Pharm*, **2(2)**:135-143.
- Kumar, D. & Kumar, S. 2015, *Calotropis gigantea* (L.) Dryand: a review update, *Indian J Res Pharm Biotech*, **3(3)**: 218-235.
- Lin, Y.L. & Lin, J.K. 1997, (-)-Epigallocatechin-3-gallate blocks the induction of nitric oxide synthase by down-regulating lipopolysaccharide-induced activity of transcription factor nuclear factor-kappaB, *Mol Pharm*, **52**: 465-472.
- Lokesh, D., Das, B., Choudhury, M.D., Dey, A., Talukdar, A.D. & Nongallema, K.H. 2014, Antioxidant and anti-inflammatory activity of aqueous and methanolic extracts of rhizome part of *Drynaria quercifolia* (L.) j. smith., *Int J Pharm Pharm Res*, **6(6)**: 43-49.
- Longo, D.L., Kasper, D.L., Jameson, J.L., Fauci, A.S., Hauser, S.L. & Loscalzo, J. 2011, *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 18th edition. McGraw-Hill, New York, US.
- Makkar, H. 2003, *Quantification of tannins in tree and shrub foliage: A laboratory manual*, Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Netherlands.
- Marliana, S.D., Suryani, V. & Suyono. 2005, Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam ekstrak etanol, *Biofarmasi*, **3(1)**: 26-31.
- Millikan, L.E. 2000, *Drug therapy in dermatologi*, Marcel Dekker Inc, New York, US.

- Mulyani, S. & Laksana, T. 2011, Analisis flavonoid dan tannin dengan metoda mikroskopi-mikrokimiawi, *Majalah Obat Tradisional*, **16(3)**: 109-114.
- Nuhu, H. & Ghani, A. 2002, Alkaloid content of the leaves of three nigerian datura species, *Nig J Nat Prod Med*, **6**: 15-18.
- Oyedapo, O.O., Akinpelu, B.A., Akinwunmi, K.F., Adeyinka, M.O. & Sipeolu, F.O. 2010, Red blood cell membrane stabilizing potentials of extract of *Lantana camara* and its fractions, *Int J Plant Physiol Biochem*, **2(4)**: 46-51.
- Panda, H. 2010. *Handbook on drugs from natural sources*, Asia Pasific Business Press, New Delhi, India.
- Patel, R.K., Patel, J.B. & Trivedi, P.D. 2015, Spectrophotometric method for the estimation of total alkaloids in the *Tinospora cordifolia* M. and its herbal formulations, *Int J Pharm Pharm Sci*, **7(10)**: 249-251.
- Polya, G.M. 2003, *Biochemical targets of plant bioactive compounds: a pharmacological reference guide to sites of action and biological effects*, CRC Press, Florida, US.
- Pozdnyakova, T.A. & Bubenchikov, R.A. 2014, Development of methodology for the quantitative determination of tannins in the *Geranium sibiricum* L. herb, *Int J Exp Edu*, **2**: 40-42.
- Pratap, B., Kumar, R., Tiwari, D., Yadav, S. & Singh, S. 2010, Evaluation of antidiarrheal property of the hydroalcoholic extract of roots of *Calotropis gigantea* R.Br. on castor-induced diarrhea in rats, *Sch Res Lib*, **3**: 309-314.
- Preedy, V.R. 2015, *Betaine: Chemistry, analysis, function, and effects*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
- Rahman, R., Rehman, F., Shashank, B., Rajashekar, S., Gangadhar, B., Chandrashekar, S., *et al.* 2012, Evaluation of *Calotropis gigantea* root in experimental diarrhea, *Int J Pharm Ind Res*, **2(1)**: 10-15.
- Raj, J., Mohineesh, C., Tirath D., Monika, P. & Anupurna, R. 2013, Determination of median lethal dose of combination of endosulfan and cypermethrin in wistar rat, *Toxicol Int*, **20(1)**: 1-5.
- Rajendran, V. & Lakshmi, K.S. 2008, In vitro and In vivo anti-inflammatory activity of leaves of *Symplocos cochinchnensis* (Lour) Moore ssp *laurina*, *Bangladesh J Pharmacol*, **3**: 121-124.
- Roberts, M.F. 1998, *Alkaloids: biochemistry, ecology, and medical applications*, Springer Science+Business Media, New York, US.

- Robinson, T. 1995, Kandungan organic tumbuhan tinggi, Edisi IV, diterjemahkan dari Bahasa Inggris oleh Padmawinata, K., Penerbit ITB, Bandung, Indonesia.
- Roy, A., Khasnabis, J. & Rai, C. 2015, Determination of tannin content by titrimetric method from different types of tea, *J Chem Pharm Res*, **7(6)**: 238-241.
- Sabadini, E. & Carvalho, L.V. 2013, Visual demonstration of the ionic strength effect in the classroom the debye-hückel limiting law, *Quim Nova*, **36(1)**: 187-189.
- Saifudin, A., Rahayu, V. & Teruna, H.Y. 2011, *Standarisasi bahan obat alam*, Graha Ilmu, Yogyakarta, Indonesia.
- Scherrer, R.A. 2012, *Anti-inflammatory agents part I: chemistry and pharmacology*, volume 1, Elsevier Publisher, New York, US.
- Schmidt, R.F. & Thews, G. 2013, Human physiology, *Springer-Verlag*, Berlin, Germany.
- Shamsa, F., Monsef, H., Ghamooshi, R. & Verdian-rizi, M. 2007, Spectrophotometric determination of total alkaloid in *Peganum harmala* L. using bromocresol green, *Res J Phytochem*, **1(2)**: 79-82.
- Sim, K.S., Nuresti, A.M. & Norhanom, A.W. 2010, Phenolic content and antioxidant activity of *Pereskia grandifolia* Haw. (Cactaceae) extracts, *Pharmacogn Mag*, **6(23)**: 248-254.
- Souto, A.L., Tavares, J.F., Da Silva, M.S., De Fatima, M., De Athayde-Filho, P.F. & Filho, J.S.B. 2011, Anti-inflammatory activity of alkaloids: an update from 2000 to 2010, *Molecules*, **16**: 8515-8534.
- Suresh, B. & Karki S.S. 2012, Wound healing activity of *Calotropis gigantea* leaves in albino wistar rats, *Int J Pharm*, **2(1)**: 195-199.
- Thoha, M.Y., Sitanggang, A.F. & Hutahayan, D.R. 2009, Pengaruh pelarut isopropil alkohol 75% dan Etanol 75% terhadap ekstraksi saponin dari biji teh dengan variabel waktu dan temperatur, *Jurnal Teknik Kimia*, **3(16)**: 1-10.
- Tsuciya, H. 2015, Membrane interactions of phytochemicals as their molecular mechanism applicable to the discovery of drug leads from plants, *Molecules*, **20**: 18923-18966.
- Ushijima, H., Tanaka, K., Takeda, M., Katsu, T., Mima, S. & Mizushima, T. 2005, Geranylgeranylacetone protects membranes against nonsteroidal anti-inflammatory drugs, *Mol Pharmacol*, **68**: 1156-1161.

- Voight, R. 1994, *Buku pelajaran teknologi farmasi*, diterjemahkan dari Bahasa Inggris oleh Noerono, S., UGM Press, Yogyakarta, Indonesia.
- Wagner, H. & Bladt, S. 1996, *Plant drug analysis a thin layer chromatography atlas*, 2nd Edition, Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Wink, M. 2010, *Annual plant reviews, functions and biotechnology of plant secondary metabolites*, 2nd Edition, Wiley-Blackwell, Oxford, UK.
- Witono & Yuli. 2008, Deklorofilasi ekstrak protease dari tanaman biduri (*Calotropis gigantea*) dengan absorban celite, *Berk Penel Hayati*, **13(11)**: 115-121.
- Yamuna, D.M., Wesely, E.G. & Johnson, M. 2012, Chromatographic Studies on the tannins of *Aerva lanata* (L.) Juss. Ex Schultes, *IOSR J Pharm*, **2(1)**: 41-51.
- Yulianingtyas, A. & Kusmartono, B. 2016, Optimasi volume pelarut dan waktu maserasi pengambilan flavonoid daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), *Jurnal Teknik Kimia*, **10(2)**: 58-64.
- Zeng, J., Peng, Z. & Song, J. 2004, The dynamic change of Pinellia Total Alkaloid Total Content, *Trad Chinese Med*, **27(7)**: 471.