

In Vitro Anti-Inflammatory Test of Genjer Leaf Extract (*Limnocharis Flava*)

Yufri Aldi¹, Nurliyasman², Herwinda Julia Putri³, Rury Trisa Utami^{4*}
Institut Kesehatan Mitra Bunda

Corresponding Author: Rury Trisa Utami Rurytrisautami@ikmb.ac.id

ARTICLE INFO

Keywords: Anti-Inflammatory, *Limnocharis Flava* L, Erythrocyte Membrane Stabilization

Received : 5 April

Revised : 18 April

Accepted: 19 May

©2023 Utami: This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



ABSTRACT

Genjer plant (*Limnocharis flava* L.) has been widely used to maintain digestive health, accelerate wound healing, maintain skin health, and help lower cholesterol. The phytochemical compounds of flavonoids contained in genjer leaves are thought to have anti-inflammatory properties. This study aims to determine the activity of the anti-inflammatory effect of genjer leaf extract using the erythrocyte membrane stability method. Variations in the concentration of the test solution made were 6 concentration variations, namely 10, 50, 100, 250, 500 and 1000 ppm. The anti-inflammatory effect of the extract was then compared with standard ibuprofen. From the results of the anti-inflammatory activity test using the erythrocyte membrane stability method based on the calculation of the stability percentage, genjer leaf extract at a concentration of 1000 ppm had the highest activity, namely 76.70%. Therefore, this concentration can be considered as the highest/effective concentration, for achieving protection of the erythrocyte membrane with a hypotonic solution. Based on the results of the one way ANOVA test, it was found that giving genjer leaf extract had a significant effect on the stability of the erythrocyte membrane ($p < 0.05$). This research can be concluded based on the erythrocyte membrane stability test method, Genjer Leaf Extract has anti-inflammatory properties

Uji In Vitro Anti Inflamasi Ekstrak Daun Genjer (*Limnocharis Flava*)

Rury Trisa Utami

Institut Kesehatan Mitra Bunda

Corresponding Author: Rury Trisa Utami Rurytrisautami@ikmb.ac.id

ARTICLE INFO

Kata Kunci: Anti-Inflamasi, *Limnocharis Flava* L, Stabilisasi Membran Eritrosit

Received : 5 April

Revised : 18 April

Accepted: 19 May

©2023 Utami: This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Atribusi 4.0 Internasional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



ABSTRAK

Tanaman genjer (*Limnocharis flava* L.) telah banyak dimanfaatkan untuk menjaga kesehatan pencernaan, mempercepat penyembuhan luka, menjaga kesehatan kulit, membantu menurunkan kolesterol. Senyawa fitokimia flavonoid yang terkandung dalam daun genjer diduga berkhasiat sebagai anti-inflamasi. Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui aktivitas efek antinflamasi ekstrak daun genjer dengan menggunakan metode stabilitas membran eritrosit. Variasi konsentrasi larutan uji yang dibuat adalah 6 variasi konsentrasi yaitu 10, 50, 100, 250, 500 dan 1000 ppm. Efek anti-inflamasi ekstrak lalu dibandingkan dengan Standar ibuprofen. Dari hasil uji aktivitas antiinflamasi dengan metode stabilitas membran eritrosit berdasarkan perhitungan persentase stabilitas, ekstrak daun genjer pada konsentrasi 1000 ppm memiliki aktivitas tertinggi yaitu 76,70%. Oleh karena itu, konsentrasi ini dapat dianggap sebagai konsentrasi tertinggi/efektif, untuk mencapai perlindungan membran eritrosit dengan larutan hipotonik. Berdasarkan hasil *test one way ANOVA* diketahui bahwa memberi ekstrak daun genjer berpengaruh nyata terhadap stabilitas membran eritrosit ($p < 0,05$). Penelitian ini dapat disimpulkan berdasarkan metode uji stabilitas membran eritrosit, Ekstrak Daun Genjer memiliki sifat anti inflamasi

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara yang memiliki kepulauan dengan beraneka ragam tumbuhan. Salah satu tanaman yang mengandung antiinflamasi adalah genjer (*Limnocharis flava* L.), tanaman ini dikenal untuk makanan masyarakat sebagai sayuran. Tanaman genjer bermanfaat sebagai obat tradisional untuk menjaga kesehatan pencernaan, mempercepat penyembuhan luka, menjaga kesehatan kulit dan menurunkan kolesterol. Selain itu tanaman genjer mempunyai senyawa flavonoid yang mempunyai potensi untuk menghambat sintesa mediator inflamasi (Fauziah *et al.*, 2018).

Peradangan adalah Respon dan upaya pertahanan tubuh terhadap infeksi, iritasi, atau benda asing (Arifah *et al.*, 2017). Inflamasi merupakan suatu reaksi jaringan terhadap cedera yang merupakan respon perlindungan yang mengatur penyimpanan untuk penyembuhan dan pemulihan fungsi normal di jaringan yang rusak (Subramanian & Balakrishnan, 2018).

Metode untuk mengukur aktivitas anti-inflamasi yaitu dengan metode stabilitas membran eritrosit secara *invitro*. Stabilitas membran eritrosit adalah metode yang paling banyak digunakan dalam penelitian sebagai parameter biokimia dalam uji antiinflamasi secara *in vitro* (Hardy *et al.*, 2018).

Efek antiinflamasi sampel dapat dilihat dari absorbansi yang turun dari campuran larutan uji. Semakin rendah nilai absorpsi yang dihasilkan, semakin sedikit hemolisis yang terjadi, sehingga semakin besar efek antiinflamasi dari sampel (Hardy *et al.*, 2018).

Efek antiinflamasi ekstrak etanol herbal genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau) yang diteliti pada tikus putih jantan, menurut hasil yang diperoleh, ekstrak etanol herba genjer memiliki efek antiinflamasi dan tidak memengaruhi jumlah leukosit pada tikus jantan (Fauziah *et al.*, 2018).

Berdasarkan latarbelakang di atas, maka dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengkonfirmasi potensi tanaman genjer sebagai senyawa antiinflamasi. Penelitian tentang ekstrak daun genjer sebagai anti-inflamasi dengan metode stabilitas membran eritrosit secara *invitro* belum ditemukan. Oleh sebab itu, *research* terkait ekstrak daun genjer sebagai anti-inflamasi dengan metode stabilitas membran eritrosit secara *invitro* dapat dikembangkan sehingga dapat dijadikan untuk informasi dalam perkembangan sediaan sebagai herbal dan bahan baru acuan untuk *research* seterusnya untuk mendapatkan hasil yang lebih baik.

TINJAUAN PUSTAKA

Tanaman genjer berasal dari daerah tropis dan subtropis. Tanaman genjer dibawa ke Asia Tenggara lebih dari seratus tahun yang lalu. Tumbuhan ini tumbuh di rawa-rawa, perairan dangkal seperti sawah, kolam ikan dan parit (Rusydi, 2010). Komponen bioaktif yang terkandung di dalam daun *Limnocharis flava* L. adalah flavonoid, fenol, hidrokuinon, gula pereduksi dan asam amino. *Limnocharis flava* mengandung senyawa fenolik dan flavonoid dengan kandungan fenolik total 5,4 mg GAE/g tanaman dan kandungan flavonoid total 3,7 mg RE/g tanaman (Narwanti *et al.*, 2018).

Golongan senyawa flavonoid memiliki kemampuan untuk menstabilkan membran (Wiranto *et al.*, 2016). Senyawa Flavonoid memiliki kemampuan untuk menghambat sintesis mediator inflamasi. Selain menghambat sekresi metabolik asam arakidonat, flavonoid juga dapat menghambat enzim lisosom yang merupakan mediator inflamasi. Penghambatan mediator inflamasi ini dapat mencegah eskalasi proses inflamasi. (Fauziah *et al.*, 2018). Senyawa flavonoid diketahui memiliki aktivitas anti-inflamasi, antialergi, antivirus dan sifaantikanker (Hardy *et al.*, 2018). Senyawa flavonoid berfungsi dalam melindungi membran eritrosit dari larutan hipotonik. Efek larutan hipotonik mengacu pada jumlah cairan yang masuk ke membran eritrosit, yang menyebabkan eritrosit lisis (Hardy *et al.*, 2018).

Hipotesis: Aktivitas ekstrak daun genjer (*Limnocharis flava* L.) dapat menghambat reaksi inflamasi dengan metode stabilitas membran eritrosit secara *invitro*.

METODOLOGI

Penelitian menggunakan alat Corong, erlenmeyer, beker glas, timbangan, blender, tabung reaksi, gelas ukur, pH meter, pipet tetes, plat tetes, mikropipet, oven, kertas saring Whatman no.42, labu ukur, rotary evaporator (Heidolph), Autoklaf, Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1800), Sentrifus (Hettich EBA 20).

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun genjer (*Limnocharis flava* L.), etanol 70%, dinatrium hidrogen fosfat (UPT BPPTK LIPI), natrium hidrogen fosfat (UPT BPPTK LIPI), aquades, Natrium klorida (NaCl) (UPT BPPTK LIPI), serbuk magnesium (Merck), FeCl₃ (Merck), kloroform (Merck), HCl pekat (Merck), norit, pereaksi Lieberman-Bouchard (Nitra Kimia), kloroform amoniak (Merck), H₂SO₄ 2N (Merck), pereaksi Mayer (Gifala), Ibuprofen (Kimia Farma), sel darah merah kambing.

Ekstraksi

Sebanyak 6 kg daun genjer segar dibersihkan dari partikel asing serta ditiriskan, dipotong kecil dan dikeringkan, Setelah kering daun genjer dihaluskan.

Tahap selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi. Serbuk simplisia daun genjer dimasukkan kedalam wadah maserasi dan Etanol 70% ditambahkan sampai perendaman, pengadukan dilakukan sekali 6 jam, lalu disimpan jauh dari sinar matahari langsung. Perendaman dilakukan selama 24 jam, kemudian disaring maka di peroleh maserat, ampas direndam kembali dalam etanol 70%.

Pengulangan dilakukan 3 kali maserasi. Maserat dipekatkan menggunakan rotary evaporator sampai 1/3 bagian volume lalu pemekatan dilanjutkan mendapatkan ekstrak kental dengan menggunakan oven pada suhu 40°C.

Uji Fitokomia

Uji fitokimia sebagai berikut⁷ :

- a. Flavonoid *test*
- b. Fenolik *test*
- c. Saponin *test*
- d. Steroid / terpenoid *test*
- e. Alkaloid *test*

Uji Aktivitas Anti-Inflamasi dengan Metode Stabilitas Membran Eritrosit

Persiapan Larutan yang Diperlukan

- a. Pembuatan Dapar Fosfat pH 7,4 (0,15 M)
Sebanyak 2,671 gram dinatrium hidrogen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dilarutkan dalam air suling menjadi 100 mL (0,15 M). 2,070 gram natrium dihidrogen fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) dilarutkan dalam air suling hingga 100 ml (0,15 M). Kemudian 81 ml larutan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,15 M) dicampur dengan 19 mL larutan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,15M) pada suhu kamar. Kemudian periksa pH dengan pH meter. Kemudian autoklaf pada suhu 121 °C selama 2 jam.
- b. Pembuatan Larutan isosalin
Sebanyak 0,85 gram NaCl dilarutkan dalam dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M) pada suhu ruang hingga 100 ml. Kemudian pada suhu 121°C di autoklaf selama 2 jam.
- c. Pembuatan Larutan Hiposalin
Tambahkan hingga 0,25 gram NaCl dipecah dalam buffer fosfat pH 7,4 (0,15 M) hingga volume 100 mL pada suhu kamar. Selanjutnya, disterilkan dengan autoklav pada suhu 121°C selama 2 jam.
- d. Persiapan konsentrasi ekstrak daun genjer (*Limnocharis Flava* L.) dan Ibuprofen

Timbang 50 mg ekstrak dipecah dalam isosaline menjadi 50 mL (1000 ppm) pada suhu kamar. Kemudian dilarutkan menjadi beberapa konsentrasi (10, 50, 100, 250, 500 dan 1000 ppm). Ibuprofen, sebanyak 50 mg Ibuprofen dipecah dalam 50 mL isosaline (1000 ppm) pada suhu kamar. Kemudian dipecah menjadi beberapa konsentrasi (25, 50, 100, 250 dan 500 ppm).

Pembuatan Suspensi Eritrosit

Darah untuk uji stabilisasi membran eritrosit didapat dari darah kambing. sebanyak 10 ml darah dimasukkan ke dalam tabung *sentrifuge*, disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm dengan lama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan dipisahkan dengan pipet steril. Pelet sel darah yang tersisa dicuci menggunakan isosaline dan di sentrifus lagi. Pengulangan 4 kali atau isosaline sampai menjadi bening atau bersih.

Volume sel darah diukur dan diresuspensi dalam iso-saline untuk mendapatkan 10% (v/v) suspensi sel darah merah. Penyimpanan Suspensi sel darah pada suhu 4 °C saat tidak dipakai.

Pengujian Aktivitas Ekstrak terhadap Stabilitas Membran Eritrosit

Penentuan aktivitas ekstrak terhadap stabilitas membran eritrosit, larutan yang digunakan yaitu sebagai berikut:

a. Pembuatan cairan uji

Cairan uji (4,5 ml) dibuat dari 1 ml dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M), 2 mL hiposalin, 0,5 mL suspensi sel darah merah dan 1 mL larutan sampel (Siswanty,2017).

b. Pembuatan cairan pembanding

Cairan pembanding dibuat dari 1 mL dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M), 2 mL hiposalin, 0,5 ml suspensi sel darah merah dan 1 mL Ibuprofen (Siswanty,2017).

c. Pembuatan cairan kontrol

Cairan kontrol dibuat dari 1 mL dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M), 2 mL hiposalin 0,5 mL suspensi sel darah merah, dan 1 mL isosalin (Siswanty,2017).

Setiap larutan di atas diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan disentrifugasi pada 5000 rpm selama 10 menit. Cairan supernatan yang dihasilkan dikumpulkan dan konsentrasi hemoglobin diukur dengan spektrofotometer UV/Vis pada panjang gelombang maksimum (Hardy, 2018). Persentase stabilitas membran eritrosit kemudian dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Stabilitas} = \left[\frac{A1 - A2}{A1} \right] \times 100\%$$

Keterangan :

A1: Absorbansi larutan kontrol

A2: Absorbansi larutan sampel.

Analisa Data

Analisa statistic (Anova) yang digunakan dalam *Research* yaitu ANOVA satu arah. Hasil uji ANOVA berbeda nyata secara statistik ($P < 0,05$). Analisis data dilanjutkan dengan Duncan's Distance Advanced Test menggunakan software statistik SPSS 23.0 untuk melihat signifikansi hasil yang berbeda pada masing-masing konsentrasi.

HASIL PENELITIAN

Hasil ekstraksi didapatkan sebanyak 89,09 g ekstrak dengan rendemen dari sampel segar sebesar 1,48% dan sampel kering 6,1%. Berdasarkan pengamatan organoleptis, ekstrak daun genjer berbentuk kental, berwarna hitam kehijauan, memiliki aroma khas dan rasa pahit.

Fitokimia *test* berfungsi untuk identifikasi senyawa kimia yang ada pada daun genjer. Skrining fitokimia ini menunjukkan adanya senyawa-senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak daun genjer yaitu flavonoid, fenolik dan steroid. Hasil *test* skrining fitokimia terlihat pada tabel dibawah:

Tabel 1. Hasil *Test* Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Genjer

Kandungan Kimia	Kesimpulan
Flavonoid	+
Fenolik	+
Saponin	-
Steroid / Terpenoid	+/-
Alkaloid	-

Tabel 2. Stabilitas Membran Eritrosit dari Ekstrak Daun Genjer dan Perbandingan yang Diinduksi dengan Larutan Hipotonik

	Konsentrasi (ppm)	Stabilitas membran (%) Mean ± SD
Estrak daun genjer (<i>Limnocharis flava</i> L.)	10	24,03 ± 0,08
	50	29,66 ± 0,29
	100	50,76 ± 0,67
	250	54,52 ± 0,16
	500	69,80 ± 0,08
	1000	76,70 ± 2,63
Ibuprofen	25	30,64 ± 1,47
	50	43,22 ± 2,35
	100	58,54 ± 3,93
	250	70,05 ± 0,25
	500	81,74 ± 2,77

PEMBAHASAN

Efek anti-inflamasi *in vitro* dapat dilakukan dengan uji stabilitas membran eritrosit secara *in vitro*. Pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 577 nm karena gelombang 577 merupakan panjang gelombang serapan HB (hemoglobin) yang dihasilkan oleh pemecahan eritrosit atau penguraian eritrosit.

Ibuprofen merupakan obat antiinflamasi nonsteroid yang dapat menghambat enzim siklooksigenase, digunakan sebagai pembanding, yang diketahui bekerja dalam jalur konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin dan tromboksan, sehingga ketika enzim dihambat, asam arakidonat. asam tidak dapat diubah menjadi tromboksan dan prostaglandin.

Metode stabilitas membran eritrosit digunakan karena Membran eritrosit menyerupai membran lisosom karena dapat memengaruhi proses inflamasi, sehingga stabilitas membran lisosom penting dalam membatasi respons inflamasi dengan mencegah pelepasan enzim dari dalam lisosom selama proses inflamasi.

Mekanisme stabilisasi membran eritrosit dapat dilihat dalam konteks stres hipotonik dan stres oksidatif. Stres oksidatif ditandai dengan munculnya hemolisis, luasnya hemolisis yang diinduksi oleh larutan hipotonik pada membran sel eritrosit (eritrosit) berguna untuk menentukan aksi antiinflamasi.

Efek antiinflamasi ekstrak daun genjer bisa dilihat dari penurunan absorbansi campuran larutan sampel. Makin rendah nilai absorbansi, semakin sedikit hemolisis yang terjadi, sehingga makin besar efek antiinflamasi sampel. Stabilitas membran eritrosit ekstrak daun genjer dan ibuprofen ditunjukkan pada (Tabel 2).

Pada hasil *research* menunjukkan konsentrasi 1000 ppm ekstrak daun genjer mampu menstabilisasi membran eritrosit dengan memperlihatkan stabilitas terbesar yaitu 76,70%, sedangkan pada konsentrasi 10 ppm memperlihatkan kemampuan stabilitas terkecil yaitu 24,03%. Maka bisa di simpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin kecil absorbansinya dan hal itu menunjukkan konsentrasi yang semakin tinggi akan memiliki aktivitas anti-inflamasi semakin baik

Hasil skrining fitokimia membuktikan bahwa ekstrak daun genjer memiliki kandungan senyawa yang memiliki aktivitas farmakologis dengan efek antiinflamasi yaitu senyawa flavanoid. Senyawa flavonoid mempunyai kemampuan untuk menghambat sintesa mediator inflamasi. Selain bisa menghambat sekresi metabolik asam arakidonat, flavonoid juga dapat menghambat enzim lisosom yang merupakan mediator peradangan. Memblokir mediator inflamasi ini bisa mencegah penyebaran proses inflamasi (Fauziah, 2018). Senyawa flavonoid berfungsi dalam perlindungan membran eritrosit dari larutan hipotonik. Pengaruh larutan hipotone mengacu pada banyaknya cairan yang masuk ke membran eritrosit, yang menyebabkan membran eritrosit pecah (Zahra, 2017).

KESIMPULAN DAN REKOMENDASI

Semakin tinggi konsentrasi, diperoleh absorbansi semakin rendah, maka semakin tinggi juga % stabilitas membran eritrosit dan aktivitas anti-inflamasinya.

PENELITIAN LANJUTAN

Peneliti selanjutnya disarankan untuk menguji efek antiinflamasi fraksinasi daun genjer (*Limnocharis flava* L.) terhadap stabilisasi membran eritrosit dengan metode in vitro.

UCAPAN TERIMA KASIH

Saya mengucapkan terima kasih untuk tim yang mendukung dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifah, R. N., Idiawati, N., & Wibowo, M. A. (2017). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Kasar Buah Asam Paya (*Eleiodoxa conferta* (Griff.) Buret) Secara in-vitro dengan Metode Stabilisasi Membran HRBC (human Red Blood Cell). *Jkk*, 6(1), 21–24.
- Fauziah, F., Resky, R., & Delita, G. (2018). *Aktivitas Anti - Inflamasi Ekstrak Etanol Herba Genjer (Limnocharis flava (L.) Buchenau) Pada Tikus Putih Jantan*. 10(1).
- Hardy, R. S., Slamet, & Kamilla, L. (2018). Uji Aktivitas Anti Inflamasi Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine americana* L. Merr) Terhadap Stabilisasi Membran Sel Darah Merah. *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa*, 1(1), 89–83.
- Narwanti, I., Hamida, I. A., Farmasi, P. S., Farmasi, F., & Dahlan, U. A. (2018). *Limnocharis flava DENGAN METODE DPPH*. 1(2), 251–259.
- Rusydi, R. (2010). Analisis Mikroskopis dan Komponen Bioaktif Tanaman Genjer (*Limnocharis flava*) Dari Kelurahan Situ Gede Bogor. *Skripsi Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan ITB*.
- Siswanty, P. W., & Wibowo, M. A. (2017). *Aktivitas Toksisitas Antioksidan dan Antiinflamasi Secara In Vitro dari Ekstrak Metanol Daun Mangga Bacang (Mangifera Foetida L.)*. 6(1), 42–49.
- Subramanian, M., & Balakrishnan, S. (2018). In vitro anti-inflammatory and anti-venom activities of aerial parts of *Marsilea quadrifolia* Linn. *Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(1), 73–77. <https://doi.org/10.31024/ajpp.2019.5.1.10>
- Wiranto, E., Wibowo, M. A., & Ardiningsih, P. (2016). Aktivitas Antiinflamasi Secara in-Vitro Ekstrak Teripang Butoh keling (*Holothuria leucospilota* Brandt) dari pulau Lemukutan. *Jkk*, 5(1), 52–57.

Zahra, A. P., Carolia, N., Kedokteran, F., Lampung, U., Farmakologi, B., Kedokteran, F., & Lampung, U. (2017). Obat Anti-inflamasi Non-steroid (OAINS): Gastroprotektif vs Kardiotosik Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs): Gastroprotective vs Cardiotoxic. *Majority, 6*, 153-158.