

**AKTIVITAS STABILISASI MEMBRAN SEL DAN PENGHAMBATAN
DENATURASI PROTEIN EKSTRAK ETANOL BIJI WALUH
(*Cucurbita moschata* D.) SECARA *IN VITRO***



Oleh :

**Dia Frestiana
16102879 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2014**

**AKTIVITAS STABILISASI MEMBRAN SEL DAN PENGHAMBATAN
DENATURASI PROTEIN EKSTRAK ETANOL BIJI WALUH
(*Cucurbita moschata* D.) SECARA *IN VITRO***



Oleh:

**Dia Frestiana
16102879 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2014**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**AKTIVITAS STABILISASI MEMBRAN SEL DAN PENGHAMBATAN
DENATURASI PROTEIN EKSTRAK ETANOL BIJI WALUH
(*Cucurbita moschata* D.) SECARA *IN VITRO***

Oleh
Dia Frestiana
16102879 A

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 20 Juni 2014

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan



Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing Utama

Dra. Yul Maryah, M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt.

Penguji :

1. Dra. Ksirini, M.Si., Apt
2. Wiwin Herdwiani, M.Si., Apt.
3. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt.
4. Dra. Yul Maryah, M.Si., Apt.

1.

2.

3.

4.

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat”.

Kupersembahkan karya ini kepada :

- ❖ *Tuhan YME*
- ❖ *Keluarga tercinta (Bapak dan Ibu) yang selalu mendoakan ku*
- ❖ *Seseorang yang akan menjadi pendamping hidupku*
- ❖ *Rekan-rekan*

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian atau karya ilmiah atau skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 20 Juni 2014

Dia Frestiana

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan YME yang telah melimpahkan rahmat dan hidayat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“AKTIVITAS STABILISASI MEMBRAN SEL DAN PENGHAMBATAN DENATURASI PROTEIN EKSTRAK ETANOL BIJI WALUH (*Cucurbita moschata* D.) SECARA *IN VITRO*”**. Skripsi ini ditulis untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.F) pada Fakultas Farmasi di Universitas Setia Budi.

Selama penulisan laporan ini penulis banyak mendapat bantuan, saran dan dorongan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Winarso Soeyolegowo, SH., M.Pd., selaku Rektor Universitas Setia Budi, Surakarta.
2. Prof. Dr. RA. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
3. Dra. Yul Maryah, M.Si., Apt selaku pembimbing utama yang telah memberikan bantuan berupa bimbingan serta saran dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan pengarahannya, bimbingan serta petunjuk kepada penulis demi terselesainya penyusunan skripsi ini.
5. Dra.Kisrini, M.Si., Apt., selaku Penguji I, yang telah banyak menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan saran dan kritik demi kesempurnaan skripsi ini.

6. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt., selaku Penguji II yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan bimbingan dan nasehat demi kesempurnaan peulisan skripsi ini.
7. Segenap dosen dan Staf laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta yang telah memberikan bantuan selama penyusunan skripsi
8. Keluargaku (bapak, ibu, mbk ika, daffa, safaa) yang aku sayangi dan cintai
9. Seseorang yang akan menjadi pendamping hidupku (Mas joko)
10. Teman-temanku (Tika, Yu Dian, Depik, Dhidhi, Eko Tabun, Mak'e) yang selalu membantu
11. Teman-teman teori 1 angkatan 2010.
12. Semua pihak yang telah membantu penyusunan Skripsi ini.

Dengan segala kerendahan hati, penulis menyadari bahwa dalam penulisan dan penyusunan Skripsi ini masih banyak kekurangan dan masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca demi sempurnanya Skripsi ini. Semoga dapat bermanfaat bagi kita semua.

Surakarta, 20 Juni 2014

Dia Frestiana

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman Waluh	5
1. Sistematika tumbuhan	5
2. Nama daerah.....	5
3. Morfologi tanaman.....	5
4. Kandungan kimia	6
4.1. Flavonoid.....	6
4.2. Saponin.....	6
4.3. Tanin.....	7
5. Kegunaan tanaman	8
B. Arthritis Reumatoid.....	9
1. Definisi	9
2. Epidemiologi.....	9
3. Manifestasi klinik.....	10
4. Diagnosis.....	10
5. Patofisiologi	10
6. Pengobatan	11
6.1. Golongan steroida (glukokortikoid).....	11
6.2. Golongan non-steroid (NSAID)	12
6.3. Kortikosteroid.....	13
6.4. DMARD (<i>Disease Modifying Antirheumatic Drug</i>).....	14
C. Simplisia.....	14
1. Pengertian simplisia	14
2. Pengumpulan simplisia	15
3. Pengeringan.....	16
D. Penyarian.....	17
1. Penyarian.....	17
2. Ekstraksi.....	17

2.1. Cara dingin	18
2.2. Cara panas	18
3. Larutan penyari	20
E. Metode Uji <i>In Vitro</i>	21
1. Metode stabilisasi membran HRBC (<i>Human Red Blood Cells</i>)...	21
2. Metode penghambatan denaturasi protein	21
F. Landasan Teori.....	22
G. Hipotesis.....	25
BAB III METODE PENELITIAN	26
A. Populasi dan Sampel	26
B. Variabel Utama	26
1. Identifikasi variabel utama.....	26
2. Klasifikasi variabel utama.....	26
3. Definisi operasional variabel utama.....	27
C. Alat dan Bahan.....	28
1. Alat	28
2. Bahan.....	28
2.1. Bahan sampel	28
2.2. Bahan kimia.....	28
D. Jalan penelitian.....	28
1. Determinasi tanaman waluh.....	28
2. Pengambilan bahan	28
3. Pembuatan serbuk biji waluh	29
4. Pembuatan ekstrak metanol biji waluh	29
5. Penetapan kadar air serbuk biji waluh	30
6. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk biji waluh dan ekstrak biji waluh	30
7. Pembuatan larutan.....	31
7.1. Larutan Stok 1000 ppm pada uji stabilisasi membran sel	31
7.2. Larutan stok 1000 ppm pada uji penghambatan denaturasi protein	31
7.3. Larutan HRBC 10 %	31
7.4. Larutan Hiposaline	31
13. Prosedur Uji Stabilisasi Membran Sel secara <i>In Vitro</i>	31
14. Prosedur Uji Penghambatan Denaturasi Protein secara <i>In Vitro</i>	32
E. Analisa Data	34
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	35
A. Tanaman.....	35
1. Determinasi tanaman.....	35
2. Identifikasi tanaman waluh	35
B. Persiapan Bahan	36
1. Hasil pembuatan serbuk biji waluh	36
1.1. Pengumpulan bahan	36
1.2. Pengeringan biji waluh.....	36
1.3. Penyerbukan biji waluh.....	36

2. Hasilpenetapan susut pengeringan serbuk biji waluh	37
C. Ekstrak etanol biji waluh.....	38
1. Hasil pembuatan ekstrak etanol serbuk biji waluh.....	38
2. Identifikasi kandungan kimia.....	38
D. Hasil pengujian stabilisasi membran sel ekstrak etanol biji waluh...	39
E. Hasil pengujian penghambatan denaturasi protein	44
BAB VKESIMPULAN DAN SARAN.....	49
A. Kesimpulan	49
B. Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	56

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Skema uji stabilisasi membran sel secara <i>in vitro</i>	32
2. Skema uji penghambatan denaturasi protein secara <i>in vitro</i>	33
3. Grafik presentase membran sel	41
4. Grafik penghambatan denaturasi protein	45

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Kandungan kimia pada biji waluh	8
2. Hasil penetapan kadar air serbuk biji waluh	37
3. Hasil pembuatan ekstrak etanol biji waluh	38
4. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia biji waluh.....	39
5. Hasil rata – rata absorbansi	40
6. Hasil presentase membran sel	41
7. Hasil rata-rata absorbansi	45
8. Hasil presentase penghambatan denaturasi protein.....	46

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat keterangan determinasi	56
2. Surat pengambilan zat aktif.....	57
3. Deskriptif dan spesifikasi Na diklofenak	58
4. Foto biji waluh dan serbuk biji waluh.....	59
5. Oven pengering dan mesin penyerbuk kasar	60
6. Foto evaporator dan <i>Sterling Bidwell</i>	61
7. Soxletasi, evaporator dan ekstrak etanol biji waluh.....	62
8. Foto hasil uji kandungan kimia	63
9. Foto BSA dan PBS	64
10. Foto pengambilan HRBC, cuci darah	65
11. Larutan uji stabilisasi membran sel dan larutan uji penghambatan denaturasi protein	66
12. Sentrifugasi dan spektrofotometri	67
13. Perhitungan kadar air serbuk biji waluh.....	68
14. Perhitungan rendemen	69
15. Pembuatan larutan seri konsentrasi	70
16. Hasil absorbansi uji stabilisasi membran sel.....	71
17. Presentase stabilisasi membran sel	72
18. Hasil absorbansi uji penghambatan denaturasi protein.....	73
19. Presentase penghambatan denaturasi protein.....	74
20. Hasil spss presentase stabilisasi membran sel	75
21. Hasil spss penghambatan denaturasi protein	76
22. Regresi linier konsentrasi ekstrak biji waluh vs persen penghambatan	77
23. Regresi linier konsentrasi Na diklofenak vs persen penghambatan	78

INTISARI

FRESTIANA D. 2014. AKTIVITAS STABILISASI MEMBRAN SEL DAN PENGHAMBATAN DENATURASI PROTEIN EKSTRAK ETANOL BIJI WALUH (*Cucurbita moschata* D.) SECARA *IN VITRO*. SKRIPSI. FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Artritis reumatoid merupakan sebagian besar penyakit ringan diantara penyakit rematik yang lain. Banyak obat herbal digemari untuk mengobati penyakit rematik. Biji waluh telah dilaporkan mempunyai aktivitas anti-inflamasi yang sama baiknya dengan aktivitas analgesik. Kandungan kimia menunjukkan adanya steroid, flavonoid dan saponin.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek anti-inflamasi ekstrak etanol biji waluh ditinjau dari persentase stabilisasi membran sel dan persentase penghambatan denaturasi protein. Ekstrak etanol biji waluh yang digunakan dengan bermacam konsentrasi yaitu 50-250 ppm. Na diklofenak digunakan sebagai kontrol positif. Data dianalisis dengan uji *Independent t-test*.

Ekstrak etanol biji waluh menunjukkan respon positif. Presentase maksimum stabilisasi membran sel dan penghambatan denaturasi protein yaitu 71,58% dan 75,81% dengan konsentrasi 250 ppm. Dari uji statistik kelompok ekstrak dan Na diklofenak tidak ada perbedaan.

Kata kunci : *Cucurbita moschata* D, stabilisasi membran HRBC, denaturasi protein.

ABSTRACT

FRESTIANA D. 2014. *IN VITRO* ACTIVITY STABILIZATION MEMBRANE CELLS AND INHIBITION PROTEIN DENATURATION ETHANOLIC EXTRACT *CUCURBITA MOSCHATA* D SEED , SKRIPSI. PHARMACHY FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY.

Rheumatoid arthritis is a major ailment among rheumatic disorders. A large number of herbal extracts are in vogue used for treatment of various types of rheumatic disorders. *Cucurbita moschata* D was reported to have anti-inflammatory as well as analgesic activity. The qualitative phyto-chemical screening showed the presence of steroids, flavonoids and saponins.

The aim of this study was to determine the anti-inflammatory effect of ethanolic extract of the *Cucurbita moschata* D. by evaluating from the percentage membrane stabilization and percentage inhibition of protein denaturation. The various concentration i.e. 50 to 250 ppm ethanolic extract of the *Cucurbita moschata* D were prepared. Diclofenac sodium was used as the positive control. These data were analyzed by *Independent* t-test.

The maximum percentage membrane stabilization and inhibition of protein denaturation was found to be 71,58%, and 75,81% respectively at a concentration of 250 ppm. There is no statistically differences between group ethanolic extract of the *Cucurbita moschata* D and diclofenac sodium.

Key Words : *Cucurbita moschata* D., Protein denaturation, HRBC membran stabilization

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Inflamasi atau radang merupakan salah satu penyakit yang banyak diderita oleh masyarakat. Inflamasi memiliki angka kejadian yang cukup tinggi, dimana inflamasi dapat disebabkan oleh trauma fisik, infeksi maupun reaksi antigen dari penyakit, seperti terpukul benda tumpul dan infeksi bakteri pada luka terbuka (timbulnya nanah pada luka) yang dapat menimbulkan nyeri dan dapat mengganggu aktivitas (Yuliati 2010).

Salah satu penyakit yang menimbulkan terjadinya inflamasi yaitu artritis reumatoid (AR). Artritis reumatoid merupakan penyakit inflamasi kronik yang menyerang seluruh persendiaan dengan gejala nyeri, bengkak pada jari-jari, lutut dan pergelangan. Mekanisme imunologis berperan penting dalam memulai dan timbulnya AR (Mulyani & Darmawan 2006). Denaturasi protein merupakan salah satu penyebab dari AR. Produksi auto antigen pada AR terjadi karena adanya denaturasi protein. Salah satu pengaruh dalam respon inflamasi yang terjadi pada AR yaitu stabilisasi membran lisosomal. Stabilisasi membran lisosomal penting dalam membatasi respon inflamasi dengan mencegah pelepasan konstituen lisosom neutrofil aktif seperti enzim bakterisida dan protease yang menyebabkan peradangan jaringan lebih lanjut dan kerusakan (Murugasan 1981).

Terapi untuk artritis reumatoid (AR) umumnya hanya menyembuhkan gejala dari inflamasi tersebut, tetapi tidak mengobati penyebab penyakit tersebut.

Terapi umum yang dilakukan pada pasien AR adalah dengan inflamasi non-steroid dengan tujuan menghilangkan rasa nyeri dan inflamasi yang ditimbulkan oleh AR (Wilmana & Gan 2007).

Pengobatan yang selama ini dilakukan pada umumnya menggunakan obat-obatan modern yang tidak menutup kemungkinan memiliki efek yang tidak diinginkan. Penggunaan obat herbal yang memiliki efek anti-inflamasi diharapkan dapat mencegah dan mengobati terjadinya penyakit AR dengan efek samping yang lebih ringan. Sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mencari terapi alternatif anti-inflamasi yang memiliki efek samping yang ringan. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional adalah Waluh (*Cucurbita moschata D*). Tanaman waluh dilaporkan memiliki khasiat sebagai anti-inflamasi. Belum banyak yang mengetahui khasiat waluh sebagai anti-inflamasi sehingga tanaman ini belum dimanfaatkan secara optimal. Pada ekstrak biji *Cucurbita pepo* Linn menunjukkan aktivitas anti-inflamasi karena adanya fitosterol yang mengganggu biosintesis prostaglandin sehingga terjadi penghambatan dalam pembentukan mediator penting pada proses inflamasi (Djoko1999). Selain fitosterol, biji waluh juga mengandung flavonoid yang diduga memiliki kemampuan menurunkan edema. Menurut penelitian Reynertson (2007) menyatakan bahwa flavonoid memiliki potensi dalam menghambat enzim COX yang berperan penting dalam proses inflamasi. Selain itu menurut penelitian yang dilakukan Afifah (2003), kunyit (*Cucurma domestica val*) mempunyai efek anti-inflamasi karena adanya senyawa flavonoid.

Berdasarkan uraian tersebut maka diperlukan penelitian tentang aktivitas stabilisasi membran sel dan penghambatan denaturasi protein dari ekstrak etanol

biji waluh sebagai anti-inflamasi yang diharapkan dapat mencegah dan mengobati AR. Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* untuk selanjutnya dapat dipergunakan sebagai acuan pada penelitian *in vivo*. Pengujian aktivitas stabilisasi membran sel dilakukan secara *in vitro* terhadap stabilisasi membran HRBC (*Human Red Blood Cells*) dengan menghambat lisis pada membran HRBC yang diinduksi hipotonisitas. Pengujian aktivitas penghambatan denaturasi protein dilakukan secara *in vitro* terhadap penghambatan denaturasi BSA (*Bovine Serum Albumin*). Pada penelitian ini efek ekstrak etanol biji waluh dibandingkan dengan standar natrium diklofenak.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, permasalahan pada penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanol biji waluh memiliki aktivitas stabilisasi membran sel secara *in vitro*?
2. Apakah ekstrak etanol biji waluh memiliki aktivitas penghambatan denaturasi protein secara *in vitro*?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui aktivitas stabilisasi membran sel dari pemberian ekstrak etanol biji waluh yang diuji secara *in vitro*.

2. Untuk mengetahui aktivitas penghambatan denaturasi protein dari pemberian ekstrak etanol biji waluh yang di uji secara *in vitro*.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi masyarakat dan ilmu pengetahuan pada umumnya, dalam hal penggunaan ekstrak biji waluh pada terapi inflamasi dan artritis yang lebih rasional, sekaligus menjadi dasar penelitian selanjutnya, khususnya pengembangan penelitian anti-inflamasi dan obat herbal lainnya.