

**FORMULASI DAN UJI EFEKTIVITAS ANTI INFLAMASI SEDIAAN KRIM EKSTRAK
ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata L.*) SECARA IN VITRO**

*Formulation and Anti-Inflammatory Effectiveness of Ethanol Extracts of Soursop Leaves (*Annona Muricata L.*) Using In Vitro Assay*

Raimundus Chaliks*, Djuniasti Karim, Hidayati, Haryuni
Poltekkes Kemenkes Makassar

***E-mail korespondensi:roykhalik@poltekkes-mks.ac.id**

DOI: <https://doi.org/10.32382/mf.v19i1.3300>

ABSTRACT

*Inflammation-reducing medications like steroids and non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are known to have considerable side effects, so an alternative with minimal side effects is needed. Besides administering anti-inflammatories orally, topical preparations are also increasingly being developed for reasons of practicality and minimal side effects that can occur. Soursop leaves (*Annona muricata L.*) are commonly utilized by the community as a medicinal plant for treating inflammation. Several studies have shown that soursop leaf extract has anti-inflammatory effects. This research is a laboratory experimental study that aims to test the effectiveness of anti-inflammatory cream preparations of soursop leaf extract in vitro. The cream preparations that had been formulated were tested for stability before and after accelerated storage. Anti-inflammatory effectiveness test in vitro using protein denaturation inhibition method by making each series of Na positive control solution. Diclofenac, cream preparation, and negative control were dissolved using 0.2% BSA solution in TBS solvent pH 6.2 – 6.5. Then the solution was incubated for 30 minutes and heated for 2 minutes at 100°C. After cooling, the solution was homogenized, and absorbance was measured using a UV-visible spectrophotometer at a wavelength of 660 nm. Anti-inflammatory effectiveness is seen from the IC₅₀ value. The results showed that soursop leaf extract cream preparations could inhibit protein denaturation. An IC₅₀ value of 291.11 µg/mL.*

Keywords: Soursop leaves, anti-inflammation, in vitro, protein denaturation

ABSTRAK

Obat-obat anti-inflamasi seperti golongan steroid dan anti-inflamasi non steroid (AINS) diketahui memiliki efek samping yang patut diperhitungkan sehingga diperlukan suatu alternatif dengan efek samping minimal. Di samping pemberian anti inflamasi per oral, juga semakin banyak dikembangkan sediaan topikal dengan alasan kepraktisan dan efek samping minimal yang dapat ditimbulkan. Salah satu tanaman obat yang sering digunakan oleh masyarakat untuk mengobati inflamasi adalah daun sirsak (*Annona muricata L.*). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak memiliki efek anti-inflamasi. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang bertujuan untuk menguji efektivitas sediaan krim anti-inflamasi ekstrak daun sirsak secara *in vitro*. Sediaan krim yang telah diformulasi diuji stabilitasnya sebelum dan sesudah penyimpanan dipercepat. Efektivitas anti-inflamasi diuji secara *in vitro* menggunakan metode inhibisi denaturasi protein dengan membuat masing-masing seri larutan kontrol positif Na. Diklofenak, sediaan krim, dan kontrol negatif yang dilarutkan menggunakan larutan BSA 0,2 % dalam pelarut TBS pH 6.2 – 6.5. Kemudian larutan diinkubasi selama 30 menit dan dipanaskan selama 2 menit pada suhu 100°C. Setelah dingin, larutan dihomogenkan dan dilakukan pengukuran absorbans dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 660 nm. Hasil penelitian menunjukkan sediaan krim ekstrak daun sirsak dapat menghambat denaturasi protein dilihat. Nilai IC₅₀ sebesar 291.11 µg/mL

Kata kunci : Daun sirsak, anti inflamasi, *in vitro*, denaturasi protein

PENDAHULUAN

Inflamasi mencerminkan respons biologis dari sistem kekebalan tubuh yang dapat diaktifkan oleh berbagai pemicu, termasuk patogen, kerusakan sel, radiasi, dan senyawa toksik. Inflamasi memegang peranan utama dalam berbagai kondisi patologis seperti arthritis,

diabetes, asma, penyakit kardiovaskular, dan kanker. Manifestasi inflamasi pada tingkat jaringan mencakup gejala seperti kemerahan, edema, peningkatan suhu, sensasi nyeri, dan kehilangan fungsi jaringan, yang merupakan respons dari sistem kekebalan tubuh lokal, respons vaskular, dan respons sel inflamasi

terhadap infeksi atau trauma ([Chen et al., 2018](#)). Berbagai obat anti inflamasi non steroid (NSAID) banyak dipakai dalam klinis untuk inflamasi. Namun, kemanjuran terapeutiknya tampaknya terhambat oleh adanya sejumlah efek samping yang tidak diinginkan, dan sering kali serius. Oleh karena itu, akan sangat diinginkan untuk menemukan alternatif yang tidak terlalu toksik, dan beberapa tumbuhan obat mungkin menjadi kandidat untuk alternatif tersebut ([Rahmawati & Mustari, 2012](#)).

Daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) secara umum dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai tanaman obat yang secara empiris digunakan untuk meredakan peradangan atau inflamasi. ([Rahmawati & Mustari, 2012](#)). Khasiat yang dimiliki daun sirsak, diantaranya: anti inflamasi, antibakteri, anti kanker, anti hiperglikemik, antioksidan, dan anti fungi ([Souza et al., 2010](#); [Ana et al., 2016](#)). Beberapa studi melaporkan bahwa ekstrak daun sirsak memiliki efek anti inflamasi. [Laksmitawati et al \(2016\)](#) mengungkapkan ekstrak daun sirsak dapat menghambat mediator inflamasi. [Moghadamtousi et al \(2015\)](#) melaporkan bahwa evaluasi imunohistokimia ekstrak daun sirsak memperlihatkan aktivitas anti inflamasi pada penyembuhan luka eksisi dengan regulasi HSP70. Dalam studi *in vivo*, pengujian efek anti-inflamasi melalui edema pada tikus yang diinduksi keregenan dimana ekstrak menunjukkan pengurangan edema yang signifikan.

Dari sejarah panjang pemanfaatan tanaman sirsak secara empiris dan berbagai penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, ditemukan belum ada yang melaporkan efek anti-inflamasi dari ekstrak daun sirsak dalam bentuk sediaan krim. Sehingga perlu dilakukan pengembangan suatu produk untuk mewujudkan kepraktisan penggunaan daun sirsak. Dimana penggunaan dalam bentuk ekstrak kurang praktis, penetrasinya kurang. Salah satu cara yaitu melalui suatu formulasi produk yang praktis dan dapat langsung dengan mudah digunakan, contohnya seperti sediaan krim. Dengan memformulasikan ekstrak daun sirsak dalam bentuk sediaan krim, selain kepraktisan, ekstrak juga dapat melekat dengan baik pada permukaan kulit sehingga mampu berpenetrasi dengan baik dan efek farmakologi yang diinginkan menjadi lebih optimal. Selain itu formulasi dalam sediaan krim akan dapat memberikan efek melembapkan, kemampuan penyebaran yang baik, serta mudah dicuci. Sediaan topikal anti inflamasi dirancang untuk mengurangi tingkat efek samping yang terkait sambil tetap memberikan efek pereda nyeri dan

peradangan ([Klinge, S. A., & Sawyer, G. A. 2013](#)). Di samping itu, melalui formulasi, daun sirsak akan memiliki nilai penerimaan yang lebih baik oleh pengguna dan bentuk sediaan yang tampak lebih menarik. Beberapa penelitian juga telah memformulasi ekstrak daun sirsak sebagai sediaan krim, seperti penelitian yang dilakukan oleh [Omar et al. \(2021\)](#) yang telah memformulasi ekstrak daun sirsak menjadi sebuah sediaan krim antioksidan yang stabil secara fisik. Penelitian serupa oleh [Susanto et al. \(2018\)](#) menunjukkan bahwa formulasi krim ekstrak daun sirsak dapat menghambat ekspresi TNF- α terhadap luka bakar kulit mencit Balb/C yang diinduksi paparan UV-B akut. Namun belum dilaporkan formulasi sediaan krim ekstrak daun sirsak dan uji efektivitas anti inflamasi secara *in vitro* menggunakan metode inhibisi denaturasi protein. Metode ini dipilih karena terjadinya denaturasi protein mengakibatkan ekspresi antigen yang terasosiasi dengan reaksi inflamasi. Dengan demikian, penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi penting terhadap pemahaman tentang potensi dan manfaat anti inflamasi dari sediaan krim ekstrak daun sirsak. Sediaan krim ekstrak daun sirsak selanjutnya diuji stabilitas sebelum dan sesudah penyimpanan dipercepat. Uji efektivitas *in vitro* menggunakan metode inhibisi denaturasi protein dengan mencampur protein (bovine serum albumin) dengan krim yang kemudian diinduksi panas agar terjadi proses denaturasi. Efektivitas anti inflamasi dapat dilihat dari nilai IC₅₀ yang didapat dari persamaan regresi linear.

METODE

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan untuk menguji aktivitas anti inflamasi sediaan krim ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) secara *In Vitro* menggunakan metode inhibisi denaturasi protein. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari 2022 – Oktober 2022 di Laboratorium Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar.

Penyiapan Simplisia

Daun sirsak diambil dari daerah Kota Makassar, Sulawesi Selatan. Sampel disortasi basah, dicuci, dipotong-potong, dan dikeringkan, kemudian ditimbang untuk menghasilkan bahan baku simplisia daun sirsak. Simplisia tersebut kemudian diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi.

Pembuatan ekstrak

Ekstraksi dilaksanakan melalui prosedur maserasi, dimana 200 gram simplisia

dimasukkan ke dalam wadah maserasi dan ditambahkan pelarut etanol 96% hingga terendam sempurna. Proses maserasi dilakukan selama 3 hari, selanjutnya disaring. Proses tersebut diulang sebanyak tiga kali replikasi. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50° C untuk menghasilkan ekstrak kental.

Formulasi sediaan krim

Masing-masing bahan pada fase minyak dan fase air dipanaskan secara berurutan dalam sebuah cawan hingga mencapai suhu 70°C, sesuai dengan tingkat lebur masing-masing. Setelah melebur, fase air dan fase minyak dicampur, dan campuran tersebut diaduk menggunakan lumpang panas hingga membentuk massa krim. Setelah terbentuknya massa krim, zat aktif ditambahkan sedikit demi sedikit dan diaduk sampai homogen.

Uji stabilitas sediaan

Evaluasi sediaan dilakukan untuk menilai kestabilan sediaan sebelum dan setelah diberi perlakuan penyimpanan yang dipercepat. Uji ini didasarkan pada pengaruh suhu (*freeze thaw*), dimana sediaan krim disimpan pada suhu 5°C dan 35°C masing-masing selama 12 jam, dilakukan sebanyak 6 siklus. Evaluasi mutu fisik dilakukan sebelum dan setelah melalui perlakuan *freeze-thaw* sebanyak 6 siklus.

Evaluasi kualitas fisik

Pengamatan organoleptis

Sediaan diamati secara visual meliputi warna, bau dan bentuk ..

Uji Homogenitas

Uji ini dilakukan dengan cara mengamati secara visual menggunakan dua buah kaca objek, dioles tipis dan merata pada salah satu kaca satu kaca dan kaca lainnya untuk menutup, kemudian diamati di bawah cahaya matahari langsung atau di bawah sinar ultraviolet. Tidak adanya butiran kasar pada sediaan menunjukkan sediaan yang homogen.

Pengukuran pH

Alat pengukur pH (pH meter) dimasukkan ke dalam wadah yang berisi sediaan, dan nilai pH yang muncul secara digital dicatat. Kesesuaian pH sediaan dianggap memenuhi kriteria jika berada dalam rentang pH kulit, yakni antara 4,5 hingga 8,0 sesuai dengan standar SNI nomor 16-4399-1996.

Pengukuran daya sebar

Sebanyak 0,5 gram sampel ditempatkan

di atas kaca bulat dengan diameter 15 cm. Kaca lain diletakkan di atasnya dan dibiarkan selama 1 menit. Selanjutnya, diameter sebar sediaan diukur. Langkah berikutnya melibatkan penambahan beban secara berturut-turut, yaitu 2 gram, 2 gram, dan 1 gram. Setiap beban ditambahkan dan dibiarkan selama 1 menit kemudian diukur diameter yang stabil. Konsistensi semisolid dianggap sangat nyaman dalam penggunaan ketika memiliki rentang diameter sebar antara 5 hingga 7 cm ([Garg et al, 2002](#)).

Uji viskositas

Pengujian viskositas dengan menggunakan viskometer dilakukan pada sediaan lotion yang telah dibuat sebelum dan setelah mengalami kondisi penyimpanan dipercepat, yaitu pada suhu 5°C dan 35°C masing-masing selama 12 jam, dilakukan sebanyak 6 siklus. Standar viskositas yang diharapkan terdapat dalam rentang nilai 2000-50000 cP.

Penentuan tipe emulsi

Sejumlah tertentu sediaan diencerkan menggunakan aquades. Jika emulsi tersebut bercampur dengan air secara sempurna, maka emulsi tersebut dikategorikan sebagai tipe minyak dalam air. Sebaliknya, jika tidak terjadi bercampur dengan air secara sempurna, maka emulsi tersebut dikategorikan sebagai tipe air dalam minyak.

Uji efektivitas anti inflamasi in vitro (metode inhibisi denaturasi protein)

Pembuatan larutan TBS (Tris-buffered saline)

Dibuat larutan sebanyak 1000 ml dengan pH 6,2 - 6,5 dengan mencampurkan: 1,21 gram tris base, 8,7 gram NaCl, asam asetat glasial dan aquades hingga 1000 ml.

Pembuatan larutan media 0.2% BSA (Bovine Serum Albumin)

Sebanyak 0.2 g bovine serum albumin dilarutkan menggunakan larutan *tris base saline* hingga volume 100 mL sehingga dihasilkan media bovine serum albumin 0.2%.

Pembuatan Larutan Kontrol Negatif (Aquades)

Sebanyak 1.25 mL aquades ditambahkan larutan 0,2% BSA hingga mencapai 5 mL.

Pembuatan Larutan Kontrol Positif (Na. Diklofenak)

Larutan induk natrium diklofenak dibuat dengan cara melarutkan 500 mg natrium diklofenak ke dalam 100 mL aquades, sehingga diperoleh larutan natrium diklofenak dengan

konsentrasi 5000 ppm.

Pembuatan Larutan Uji

Larutan induk krim ekstrak etanol daun sirsak dibuat dengan cara melarutkan 250 mg sediaan ke dalam 100 mL aquades.

Pengukuran aktivitas anti-inflamasi

Dibuat seri larutan kontrol positif, kontrol negatif, dan larutan uji yang dilarutkan menggunakan BSA 0,2 % dalam pelarut TBS. Kemudian diinkubasi pada suhu ruangan dan dipanaskan selama 2 menit pada suhu 100^o C, lalu didiamkan. Setelah dingin, larutan dihomogenkan dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada

panjang gelombang 660 nm. Presentase inhibisi denaturasi protein diukur menggunakan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Abs K.negatif} - \text{Abs larutan uji}}{\text{Abs kontrol negatif}} \times 100\%$$

Analisis Data

Nilai IC50 dihitung melalui persamaan regresi linear antara konsentrasi (X) dan persentase inhibisi/stabilitas (Y), yang dinyatakan dalam persamaan regresi linear $y = a + bx$. Setelah itu, nilai IC50 dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$IC_{50} = \frac{y-a}{b}$$

HASIL

Formula sediaan krim

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh data sebagai berikut:

Tabel 1 Formula Sediaan Krim Anti inflamasi Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Nama Bahan	Fungsi	Konsentrasi (%)
Ekstrak Etanol Daun Sirsak	Zat aktif	10
Cethyl alcohol	Peningkat viskositas	5
Span 60	Emulgator	1.43
Tween 60	Emulgator	3.56
Paraffin Liq	Basis	12
Propilen Glikol	Humektan	8
Aquadest	Solvent	Ad 100

Uji Stabilitas Sediaan krim

Sediaan krim yang telah jadi kemudian diuji kestabilan sediaan dengan melihat beberapa parameter stabilitas. Hasil pengukuran parameter stabilitas, dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 2 Pengamatan Organoleptis Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Sebelum penyimpanan dipercepat			Setelah penyimpanan dipercepat		
Warna	Bau	Bentuk	Warna	Bau	Bentuk
Hijau muda	Aroma daun sirsak lemah	Semi padat	Hijau muda	Aroma daun sirsak lemah	Semi padat

Tabel 3 Uji Homogenitas Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Sebelum penyimpanan dipercepat	Setelah penyimpanan dipercepat	Memenuhi Syarat
Homogen	Homogen	Ya
Homogen	Homogen	Ya
Homogen	Homogen	Ya

Tabel 4 Pengukuran pH Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Sebelum penyimpanan dipercepat	Setelah penyimpanan dipercepat	Literatur	Memenuhi Syarat
7,07	6.11	pH: 4.5 – 8.0	Ya

Tabel 5. Uji Viskositas Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Sebelum penyimpanan dipercepat	Setelah penyimpanan dipercepat	Literatur	Memenuhi Syarat
7206 cP	7164 cP	2000-50000 cP	Ya

Tabel 6 Uji Daya Sebar Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Sebelum penyimpanan dipercepat	Setelah penyimpanan dipercepat	Literatur	Memenuhi Syarat
5,9 cm	5,2cm	5 - 7 cm	Ya

Tabel 7. Uji Tipe Emulsi Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Sebelum penyimpanan dipercepat	Setelah penyimpanan dipercepat	Memenuhi Syarat
M/A	M/A	Ya

Uji Efektivitas Anti Inflamasi Secara In Vitro Menggunakan Metode Inhibisi Denaturasi Protein

Tabel 8. Hasil Uji Aktivitas Anti inflamasi Natrium Diklofenak Menggunakan Metode Inhibisi Denaturasi Protein Secara In Vitro

Konsentrasi (ppm)	Absorban ± SD	% Inhibisi
K.Negatif	1.1163 ± 0.1533	-
25	0.6783 ± 0.0026	39.24
50	0.5829 ± 0.0045	47.78
75	0.5596 ± 0.0017	49.87
100	0.5171 ± 0.0037	53.68
125	0.4663 ± 0.0161	58.23

Tabel 9 Hasil Uji Aktivitas Anti inflamasi Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Sirsak Menggunakan Metode Inhibisi Denaturasi Protein Secara In Vitro

Konsentrasi (ppm)	Absorban ± SD	% Inhibisi
100	0.8866 ± 0.0082	20.58
200	0.6625 ± 0.0124	40.65
300	0.5689 ± 0.0074	49.04
400	0.3885 ± 0.0046	65.20
500	0.2122 ± 0.0043	80.99

Tabel 10 Nilai IC₅₀ Berdasarkan Persamaan Regresi Linear Uji Aktivitas Anti inflamasi Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Sirsak Menggunakan Metode Inhibisi Denaturasi Protein Secara In Vitro

Bahan Uji	Persamaan Regresi	R ²	IC ₅₀ (µg/mL)
Na. Diklofenak	y = 0.1755x + 36.6014	0.9544	79.36
Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Sirsak	y = 0.1454x + 7.6823	0.9889	291.11

PEMBAHASAN

Ekstrak daun sirsak didapatkan dengan metode maserasi. Ekstrak yang dihasilkan kemudian diformulasikan menjadi krim, yang dirancang sebagai formula krim anti inflamasi. Beberapa penelitian sebelumnya aktivitas anti inflamasi dari ekstrak daun sirsak. Penelitian oleh [Arnaud et al. \(2020\)](#) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak mampu menghambat denaturasi protein secara in vitro dengan nilai IC₅₀ sebesar 187,95 µg/mL. [Laksmitawati et al. \(2016\)](#) melaporkan bahwa ekstrak daun sirsak

dapat menghambat mediator inflamasi. [Moghadamtousi \(2013\)](#) melaporkan hasil imuno histokimia yang menunjukkan aktivitas anti inflamasi pada penyembuhan luka eksisi dengan regulasi HSP70. Dalam studi in vivo, uji efek anti inflamasi pada tikus yang diinduksi karagenan menunjukkan bahwa ekstrak mampu mengurangi edema secara signifikan.

Dalam penelitian ini, stabilitas formula sediaan krim dievaluasi menggunakan metode penyimpanan dipercepat. Proses ini melibatkan penyimpanan formula pada dua suhu ekstrem,

yaitu 50°C dan 35°C, selama 12 jam dalam enam siklus. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk mengevaluasi kestabilan fisik krim yang bisa terpengaruh oleh perbedaan suhu ekstrem selama periode penyimpanan. Uji stabilitas dilaksanakan sebelum dan setelah penyimpanan dipercepat, dan mencakup beberapa parameter seperti pengamatan organoleptik, uji homogenitas, pengukuran pH, pengukuran daya sebar, uji viskositas, serta analisis tipe emulsi.

Pada pengamatan organoleptik yang dilakukan untuk mengevaluasi karakteristik sensoris sediaan, baik sebelum maupun setelah penyimpanan dipercepat, tidak terlihat perubahan pada warna, aroma, dan bentuk. Hasil ini mengindikasikan bahwa penyimpanan pada suhu ekstrem tidak berdampak pada aspek organoleptik sediaan. Uji homogenitas dilakukan untuk memastikan adanya distribusi yang merata atau homogen dari komponen krim. Hasil uji menunjukkan bahwa sediaan tetap homogen sebelum dan setelah penyimpanan dipercepat.

Pengujian berikutnya adalah pengukuran nilai pH. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui nilai pH dari sediaan yang telah dibuat, sehingga dapat dipastikan bahwa stabilitas pH sediaan dapat dipertahankan. Hasil pengukuran pH sediaan menunjukkan nilai yang sesuai dengan rentang pH 4,5 - 8,0 (SNI, 1996). Selanjutnya, dilakukan pengukuran daya sebar untuk mengevaluasi kemampuan sediaan dalam menyebar secara merata saat diaplikasikan pada kulit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sediaan memenuhi standar daya sebar yang baik, yaitu antara 5 hingga 7 cm (Garg et al., 2002).

Pengujian viskositas dilakukan untuk mengevaluasi tingkat kekentalan dari sediaan yang telah diformulasikan. Peningkatan suhu penyimpanan emulsi secara umum dapat mempercepat koalesensi dan mengakibatkan terjadinya kringing, yang sering kali diikuti oleh perubahan viskositas. Sebagian besar emulsi memiliki kecenderungan menjadi lebih encer pada suhu tinggi dan lebih kental saat dibiarkan pada suhu kamar (Lachman et al., 1994). Hasil pengukuran viskositas menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara viskositas sebelum dan setelah penyimpanan, dan nilai viskositas masih berada dalam rentang yang diinginkan.

Hasil pengujian tipe emulsi sebelum dan setelah penyimpanan dengan menggunakan metode pengenceran menunjukkan bahwa sediaan memiliki karakteristik emulsi M/A baik sebelum maupun setelah penyimpanan dipercepat. Hal ini mengindikasikan bahwa tidak terjadi inversi fase pada sediaan. Seluruh

parameter stabilitas yang telah diuji menunjukkan bahwa sediaan krim anti inflamasi ekstrak etanol daun sirsak dapat diformulasikan dan tetap stabil selama penyimpanan. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Omar et al. (2021) pada formulasi krim ekstrak daun sirsak, yang juga menunjukkan bahwa sediaan krim tersebut stabil secara fisik. Dengan demikian, semua parameter stabilitas yang diujikan menunjukkan bahwa sediaan krim anti inflamasi ekstrak etanol daun sirsak dapat diformulasikan dan tetap stabil selama penyimpanan. Temuan ini konsisten dengan penelitian oleh Omar et al. (2021) yang juga mengungkapkan bahwa formulasi krim ekstrak daun sirsak menunjukkan stabilitas fisik yang baik.

Langkah berikutnya dalam penelitian adalah melakukan uji efektivitas anti inflamasi dari sediaan krim ekstrak etanol daun sirsak menggunakan metode inhibisi denaturasi protein secara in vitro. Menurut Patel dan Zaveri (2014), terjadinya denaturasi protein dapat mengakibatkan ekspresi antigen yang terkait dengan respons inflamasi. Oleh karena itu, kemampuan suatu zat untuk menghambat proses denaturasi dianggap sebagai parameter yang efektif untuk mengevaluasi aktivitas anti inflamasi suatu substansi. Sebagai kontrol positif dalam penelitian ini, digunakan natrium diklofenak.

Hasil pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis telah dipresentasikan dalam Tabel 8 (Sediaan krim), Tabel 9 (kontrol positif/natrium diklofenak), dan Tabel 10 (kontrol negatif). Selanjutnya, dilakukan perhitungan nilai IC50 dengan menggunakan persamaan regresi linear antara konsentrasi (X) dan % Inhibisi (Y), sebagaimana dijelaskan oleh Rusli dan Setiani (2020). Berdasarkan plot konsentrasi (X) dan inhibisi (Y), persamaan regresi linear dapat dilihat pada Tabel 11. Penelitian serupa yang dilakukan oleh John et al. (2020) menunjukkan nilai IC50 untuk sampel dan standar natrium diklofenak sebesar 802.63 µg/mL dan 281.85 µg/mL. Penelitian serupa lainnya menunjukkan nilai IC50 untuk sampel dan standar (Natrium diklofenak) masing-masing adalah 250.53 µg/mL dan 24.46 µg/mL. Dalam penelitian ini, konsentrasi obat standar (Natrium diklofenak) yang diperlukan untuk mencapai 50% inhibisi denaturasi protein adalah sekitar 79.36 µg/mL, sementara untuk sediaan krim ekstrak daun sirsak sekitar 291.11 µg/mL. Terdapat perbedaan nilai IC50 dari obat standar (Na Diklofenak) yang sama dari berbagai penelitian yang telah dilaporkan, hal ini dapat

disebabkan oleh variasi dalam bioavailabilitas antar merek obat standar yang digunakan, seperti yang dicatat oleh [Heendeniya et al. \(2017\)](#).

Penghambatan denaturasi oleh sediaan krim ekstrak daun sirsak ini kemungkinan terjadi melalui adanya interaksi atau ikatan antara molekul yang terdapat pada bovine serum albumin dengan flavonoid. Interaksi ini mungkin terjadi melalui penghambatan enzim regulator yang memegang peranan penting sebagai mediator pengontrol dalam proses denaturasi protein. Pengujian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak memiliki potensi penghambatan denaturasi protein. Meski begitu, diperlukan pengujian lanjutan karena mekanisme anti inflamasi tidak hanya dapat dijelaskan melalui aktivitas penghambatan denaturasi protein saja.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun sirsak dapat diformulasikan menjadi sediaan krim dan stabil dalam penyimpanan berdasarkan parameter stabilitas seperti pengamatan organoleptik, uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar, uji viskositas, dan uji tipe emulsi. Sediaan krim ini menunjukkan kemampuan menghambat denaturasi protein secara *in vitro*, mengindikasikan efektivitas anti inflamasi dengan nilai IC₅₀ sebesar 291.11 µg/mL.

SARAN

Untuk lebih mendalam mengevaluasi efektivitas anti inflamasi sediaan krim ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) secara *in vitro*, dapat dilakukan berbagai uji tambahan. Beberapa metode yang dapat digunakan melibatkan evaluasi efek stabilisasi membran, uji penghambatan siklooksigenase dan lipooksigenase, uji penghambatan proteinase, serta uji penghambatan hyaluronidase. Metode-metode ini memberikan informasi yang lebih komprehensif mengenai potensi anti inflamasi dan mekanisme aksi sediaan krim tersebut pada tingkat selular dan molekuler yang lebih dalam.

DAFTAR PUSTAKA

- Ana V, Efigenia M, Elhadi M, Eva N. (2016). *Annona muricata: A Comprehensive Review on Its Traditional Medicinal Uses, Phytochemicals, Pharmacological Activities, Mechanisms of Action and Toxicity*. Arabian Journal of Chemistry. King Saudi University, 1-30.
- Arnaud et al. 2020. *Antioxidant, Anti-Inflammatory Efficacy and HPLC Analysis of Annona muricata Leaves*

Extracts from Republic of Benin. Scientific research an academic publisher. DOI: [10.4236/ajps.2020.116057](https://doi.org/10.4236/ajps.2020.116057)

- Chen, L., et al. (2018). *Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs*. 9(6), 7204–7218.
- Garg et al. (2002). *Spreading of semisolid formulations: An update* Pharmaceutical Technology-09-02-2002, Volume 26, Issue 9
- Heendeniya et al. (2017). *In vitro investigation of anti-inflammatory activity and evaluation of phytochemical profile of Syzygium caryophyllatum*. Journal of Pharmacognosy dan Phytochemistry 7(1): 1759-1763
- John et al (2020). *In Vitro Antimicrobial And Anti-Inflammatory Activity Of Metanol Extract Of Eranthemum Capense*. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research Vol 13, Issue 2, 2020
- Klinge, S. A., & Sawyer, G. A. (2013). *Effectiveness and safety of topical versus oral nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a comprehensive review*. *The Physician and sportsmedicine*, 41(2), 64–74. <https://doi.org/10.3810/psm.2013.05.2016>
- Lachman, L., et al. (1994) *Theory And Practice Of Pharmacy*. Mack Publishing Company: Easton Pennsylvania.
- Laksmiawati, D. R., Prasanti, A. P., Larasinta, N., Syauta, G. A., Hilda, R., Ramadaniati, H. U., et al. (2016). *Anti-inflammatory potential of gandarusa (Gendarussa vulgaris Nees) and soursoup (Annona muricata L) extracts in LPS stimulated-macrophage cell (RAW264. 7)*. J. Nat. Rem. 16, 73–81. doi: 10.18311/jnr/2016/5367
- Moghadamtousi, S. Z., Rouhollahi, E., Hajrezaie, M., Karimian, H., Abdulla, M. A., and Kadir, H. A. (2015b). *Annona muricata leaves accelerate wound healing in rats via involvement of Hsp70 and antioxidant defence*. Int. J. Surg. 18, 110–117. doi: 10.1016/j.ijssu.2015.03.026
- Omar et al. (2021). *Development and Evaluation of a Cosmetic Cream Formulation Containing Annona muricata Leaves Extract*. Latin American Journal of Pharmacy
- Osman, Nurul Izzati, et al. (2016) *In vitro Xanthine Oxidase and Albumin Denaturation Inhibition Assay of Barringtonia racemosa L. and total*

phenolic content analysis for potential anti-inflammatory use in gouty arthritis.
Journal of Intercultural
Ethnopharmacology

- Patel dan Zaveri (2014). *Trypsin and Protein Denaturation Inhibitory Activity of Different Fractionation and Isolated Compound of Leaf and Root of Justicia Gendarussa*. Int J Pharm Sci Res 2014; 5(12): 5564-71
DOI:[10.13040/IJPSR.0975-8232.5\(12\).5564-71](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.5(12).5564-71)
- Rahmawati, Rahman, S., dan Mustari. (2012). *Uji Efek Anti inflamasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona muricata L.) terhadap Mencit (Mus musculus) Jantan yang diinduksi dengan Karagen*. As-Syifaa, 4(1):715.
- Rusli dan Setiani. (2020). *Modifikasi Metode Analisis Daya Hambat terhadap Proses*

Denaturasi Protein yang Diinduksi oleh Panas. Chemical Engineering Research Articles ISSN 2614-8757 (Print), ISSN 2615-2347

- Sousa, et al (2010). *Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the etanol extract of Annona muricata L. leaves in animal models*. International journal of molecular sciences, 11(5), 2067–2078.
<https://doi.org/10.3390/ijms11052067>
- Standar Nasional Indonesia 164399 (1996) *Sediaan Tabir Surya*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Susanto et al. (2018) *Soursop (Annona Muricata, Linn) Leaf Etanol Extract Cream Application Affected the Expression of TNF- α and VEGF on Balb/C Mice Skin Exposed To Acute UVB*. Sains Medika Vol. 9, No. 1, January - June 2018 : 73-77

