

Review: analisis kondisi optimal metode penghambatan denaturasi protein *bovine serum albumin* (BSA) pada pengujian aktivitas antiinflamasi berbagai ekstrak daun tanaman

Review: analysis of optimal conditions of bovine serum albumin (BSA) protein denaturation inhibition method in anti-inflammatory activity testing of various plant leaf extracts

Annisa Rizka Nirmala¹, Lina Permatasari^{1*}, Handa Muliasari¹, Rizqa Fersiyana Deccati¹

¹Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Mataram

*corresponding author: Lina.permatasari09@gmail.com

Received: 28 November 2023; Accepted: 31 December 2023

ABSTRAK

Inflamasi merupakan manifestasi respon imun untuk mengeliminasi antigen dan proses untuk merespon kerusakan jaringan. Terdapat berbagai obat untuk mengendalikan dan menekan inflamasi yang disebut dengan antiinflamasi. Salah satu metode untuk menguji aktivitas antiinflamasi yaitu metode penghambatan denaturasi protein *Bovine Serum Albumin* (BSA). Artikel review ini akan mengulas terkait tahapan dan kondisi optimal dalam metode penghambatan denaturasi protein BSA pada berbagai sampel ekstrak daun. Literatur dikumpulkan dari beberapa website database jurnal seperti PubMed, ScienceDirect, dan Google Scholar dengan kata kunci “antiinflamasi”, “penghambatan denaturasi protein BSA”, dan “ekstrak daun” dengan rentang tahun publikasi mulai dari 2002 hingga 2023. Hasil uji aktivitas antiinflamasi dapat dinyatakan dalam bentuk persen inhibisi ataupun nilai IC₅₀. Kondisi optimal diperoleh yaitu membuat larutan BSA konsentrasi 0,2% dengan *Tris Buffer Saline* (TBS), perbandingan komposisi antara larutan BSA dan sampel yaitu 9:1, dan suhu optimal pemanasan yang menyebabkan denaturasi yaitu 70 °C. Sebelum melakukan pengujian dengan metode ini, perlu dipastikan kembali bahwa senyawa aktif yang diduga memiliki aktivitas antiinflamasi, tidak terdegradasi pada suhu pemanasan tersebut.

Kata kunci: antiinflamasi; penghambatan denaturasi protein BSA; ekstrak daun

ABSTRACT

Inflammation is a manifestation of the immune response to eliminate antigens and a process to respond to tissue damage. There are various drugs to control and suppress inflammation, referred to as anti-inflammatory agents. One method to test anti-inflammatory activity is the inhibition of Bovine Serum Albumin (BSA) protein denaturation. This review article will discuss the stages and optimal conditions in the inhibition of BSA protein denaturation method using various leaf extract samples. Literature was gathered from several journal database websites such as PubMed, ScienceDirect, and Google Scholar with keywords "anti-inflammatory," "inhibition of BSA protein denaturation," and "leaf extract," spanning publication years from 2002 to 2023. The results of anti-inflammatory activity tests can be expressed as either



percentage inhibition or IC₅₀ values. Optimal conditions were obtained by preparing a 0.2% BSA solution with Tris Buffer Saline (TBS), maintaining a 9:1 composition ratio between the BSA solution and the sample, and heating at an optimal denaturation temperature of 70 °C. Before conducting tests using this method, it is crucial to ensure that the suspected active compounds with anti-inflammatory activity are not degraded at this heating temperature.

Keywords: *anti-inflammatory; inhibition of BSA protein denaturation; leaf extract*

PENDAHULUAN

Inflamasi merupakan proses tubuh untuk merespon infeksi atau kerusakan jaringan. Adapun penanda inflamasi yang paling umum pada organ yang mengalami infeksi yaitu kemerahan (rubor), panas (kalor), pembengkakan (tumor), nyeri (dolor), dan gangguan fungsi (*function laesa*). Inflamasi didefinisikan sebagai manifestasi respon imun untuk mengeliminasi antigen dari dalam tubuh. Tidak hanya antigen, inflamasi juga merupakan suatu respon protektif normal terhadap luka jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia yang merusak, atau zat-zat mikrobiologik yang dihasilkan oleh patogen (Ramadhani & Sumiwi, 2012).

Respons inflamasi yang tidak terkontrol merupakan penyebab utama dari berbagai gangguan termasuk alergi, disfungsi kardiovaskular, sindrom metabolik, kanker, dan penyakit autoimun. Beberapa kondisi penyakit inflamasi seperti *rheumatoid arthritis*, *serum sickness*, glomerulonefritis, dan lupus eritematosus sistemik biasanya berhubungan dengan denaturasi protein jaringan (Aidoo *et al.*, 2021). Proses inflamasi jika tidak segera diatasi dapat menimbulkan penyakit yang lebih serius, seperti *vasomotor rhinorrhoea*, *rheumatoid arthritis* dan aterosklerosis (Aditya *et al.*, 2015).

Terdapat berbagai obat untuk mengendalikan dan menekan inflamasi yang disebut antiinflamasi. Berdasarkan mekanisme kerjanya, obat-obat antiinflamasi diklasifikasikan menjadi dua, yaitu golongan steroid dan golongan nonsteroid. Obat golongan steroid bekerja dengan cara menghambat pelepasan prostaglandin dari sel-sel sumbernya. Dengan kata lain, obat golongan ini bekerja dengan cara menghambat fosfolipase, suatu enzim yang bertanggung jawab terhadap pelepasan asam arakidonat dari membran lipid. Sementara obat golongan nonsteroid bekerja melalui inhibisi siklooksigenase (COX) yang berperan pada biosintesis prostaglandin (Katzung *et al.*, 2013). Obat-obatan ini rentan memiliki efek samping (Bindu *et al.*, 2020), sementara dalam praktik pengobatan, tujuannya adalah menerapkan dosis efektif dengan efikasi tertinggi dan efek samping yang paling sedikit. Oleh karena itu, diperlukan penggunaan obat antiinflamasi dari bahan alami untuk mencapai respons farmakologis yang lebih tinggi dan tingkat efek samping yang paling rendah (Ghasemian *et al.*, 2016). Terdapat beberapa metode untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi suatu bahan alam, salah satunya dengan uji penghambatan denaturasi protein BSA (*Bovine Serum Albumin*). Kelebihan

metode ini adalah efektif untuk menggambarkan aktivitas antiinflamasi dari suatu sampel yang diuji, mengingat salah satu respon inflamasi yaitu adanya proses denaturasi protein pada jaringan (Minarti *et al.*, 2021). Selain itu, protein BSA merupakan indikator denaturasi protein yang lebih peka dibandingkan dengan indikator albumin lainnya sehingga lebih cepat merespon perlakuan denaturasi dan menunjukkan denaturasi protein yang lebih sensitif (Farida *et al.*, 2018). Berdasarkan uraian di atas, ulasan artikel ini dilakukan untuk menganalisis kondisi optimal pada pengujian aktivitas antiinflamasi dengan metode penghambatan denaturasi protein BSA (*Bovine Serum Albumin*) dalam suatu sampel berbagai ekstrak daun tanaman

METODOLOGI

Dalam penelitian ini, semua data dikumpulkan dari mesin pencari berikut: PubMed, ScienceDirect, dan Google Scholar, mengingat data-data hasil publikasi pada database tersebut sudah akurat dan tervalidasi. Kata kunci yang digunakan yaitu "antiinflamasi", "*anti-inflammatory*", "penghambatan denaturasi protein BSA", "*inhibition of BSA protein denaturation*", "ekstrak daun", "*leaf extract*". Semua referensi yang digunakan untuk menerbitkan artikel tinjauan ini ditulis dalam Bahasa Indonesia dan Bahasa Inggris. Dari segi interval waktu, artikel ini berasal

dari tahun 2002 hingga 2023. Seluruh artikel yang berhubungan dengan tujuan ulasan ini dikumpulkan dan diklasifikasikan berdasarkan hasil yang diperoleh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis aktivitas antiinflamasi suatu sampel dapat dilakukan dengan menggunakan metode penghambatan denaturasi protein *Bovine Serum Albumin* (BSA). Metode ini dipilih karena banyak digunakan, tervalidasi, dan reliabel untuk mengevaluasi potensi antiinflamasi *in vitro* dari farmakofor (Kariawasam *et al.*, 2017). Secara umum, prosedur kerja metode ini meliputi pembuatan larutan BSA, pencampuran larutan BSA dengan sampel uji, hasil pencampuran tersebut kemudian diinkubasi, diberikan pemanasan, dan didinginkan, sebelum dibaca absorbansinya pada spektrofotometer UV-Vis.

Prosedur kerja metode ini yang pertama adalah membuat larutan BSA terlebih dahulu. Berdasarkan beberapa literatur, BSA dapat dilarutkan menggunakan beberapa jenis pelarut seperti akuades, *Tris Buffer Saline* (TBS), dan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) (Tabel 1). Pertimbangan pemilihan pelarut ini yaitu kemampuan melarutkan serbuk BSA dan mempertahankan pH tetap berada dalam rentang pH fisiologis serta menjaga stabilitas selama kondisi eksperimen. *Tris Buffer Saline*

(TBS) lebih dipilih karena dapat melarutkan BSA sekaligus mempertahankan pH larutan BSA.

Konsentrasi larutan BSA yang digunakan harus ditentukan. Ada beberapa pilihan konsentrasi yang digunakan yaitu 0,2%; 0,4%; 0,5%; 1%; dan 5% (Tabel 1). Pemilihan konsentrasi ini didasarkan pada seberapa banyak komponen BSA yang terlarut dalam larutan tersebut. Semakin tinggi konsentrasi BSA yang digunakan, komponen dalam ekstrak yang diperlukan untuk bekerja menghambat proses denaturasi protein juga akan semakin tinggi. Dengan demikian, konsentrasi larutan BSA yang paling kecil yaitu 0,2% dapat menjadi pertimbangan untuk dipilih terutama untuk pengujian aktivitas antiinflamasi tahap awal dan untuk mengetahui fraksi yang menunjukkan aktivitas paling tinggi.

Komponen yang perlu dipertimbangkan selanjutnya yaitu terkait perbandingan komposisi pencampuran antara larutan BSA dan sampel uji yang digunakan dalam uji aktivitas antiinflamasi. Sebagian besar penelitian berdasarkan Tabel 1, menunjukkan perbandingan volume larutan BSA dan sampel uji yang digunakan adalah 9 : 1.

Tahapan selanjutnya adalah inkubasi awal selama $\pm 20-25$ menit pada suhu ruang ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$) dan suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Tabel 1). Inkubasi ini bertujuan untuk memberikan waktu metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak untuk bekerja menghambat proses

denaturasi protein BSA yang juga terdapat dalam campuran larutan tersebut. Pemilihan waktu inkubasi awal ini tidak terbatas pada satu suhu saja tetapi menggunakan rentang suhu, dan akan bergantung pada lama waktu inkubasinya. Semakin tinggi suhu yang digunakan, waktu inkubasi awal akan semakin cepat.

Setelah inkubasi awal, tahapan selanjutnya adalah pemberian perlakuan yang menyebabkan denaturasi protein dengan pemanasan. Pada prosedur ini, sampel diberikan perlakuan pemanasan menggunakan beberapa suhu antara lain $51\text{ }^{\circ}\text{C}$, $57\text{ }^{\circ}\text{C}$, $70\text{ }^{\circ}\text{C}$, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Tabel 1). Denaturasi protein merupakan sebuah proses ketika protein kehilangan struktur tersier dan struktur sekundernya akibat senyawa eksternal, seperti asam kuat atau basa kuat, garam organik, pelarut organik dan pemanasan (Acharya & Chaudhuri, 2021). Kemungkinan adanya interaksi atau ikatan antara molekul yang terdapat dalam *Bovine Serum Albumin* (BSA) terhadap molekul yang terdapat pada masing-masing ekstrak dari daun tanaman yang memiliki potensi antiinflamasi sehingga ekstrak dapat menghambat terjadinya denaturasi protein (Muliati, 2014). Suhu pemanasan yang paling banyak digunakan yaitu pada suhu $57\text{ }^{\circ}\text{C}$. Namun, berdasarkan teori, protein BSA membentuk agregat primer dan sekunder yang tetap pada suhu $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Borzova *et al.*, 2016). Selain itu, pada suhu ini, helisitas fraksional dari BSA telah menurun menjadi 53% dan diduga konsisten meskipun didinginkan (Park *et al.*, 2018).

Penurunan struktur helisitas ini kemungkinan disebabkan karena transisi dari motif *a-helix* ke motif *β-sheet* sebelum sebagian melipat untuk menghasilkan struktur gulungan acak yang dapat membentuk oligopolimer (Murayama & Tomida, 2004).

Setelah pemanasan, campuran didinginkan selama ± 30 menit untuk memberikan waktu pemisahan antara protein yang terdenaturasi dan tidak terdenaturasi sebelum dibaca di spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 660 nm. Pengukuran ini bertujuan untuk melihat derajat kekeruhan akibat protein yang terdenaturasi (Williams *et al.*, 2008). sampel yang mengandung metabolit sekunder yang diduga memiliki aktivitas antiinflamasi akan berikatan dengan situs interaksi pada BSA, yaitu daerah yang kaya akan tirosin aromatik dan treonin alifatik di sekitar residu lisin pada BSA (Williams *et al.*, 2002). Hal ini menyebabkan penghambatan proses denaturasi protein setelah dipanaskan, sehingga jumlah protein terdenaturasi menjadi lebih sedikit, dan tingkat kekeruhannya akan berkurang. Semakin sedikit jumlah protein yang terdenaturasi, tingkat kekeruhan akan semakin rendah, yang menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang semakin baik (Williams *et al.*, 2002).

Pada pengujian aktivitas antiinflamasi, sebagian besar memilih natrium diklofenak sebagai kontrol positif karena merupakan salah satu golongan *Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs* (NSAID) yaitu memiliki kemampuan intrinsik untuk

menstabilkan atau mencegah denaturasi protein dengan mempengaruhi perubahan konformasi yang dialami oleh protein yang diberi perlakuan panas pada pH fisiologis 6,2–6,5 (Aidoo *et al.*, 2021). Selain itu, struktur diklofenak mengisi sebagian besar ruang yang sama yang ditempati oleh asam arakidonat sehingga secara kompetitif menghambat asam arakidonat untuk berikatan dengan COX-1 dan COX-2 (Rowlinson *et al.*, 2003).

Penggunaan natrium diklofenak sebagai kontrol positif karena memiliki efek yang cepat dalam menghilangkan inflamasi (peradangan). Natrium diklofenak juga memiliki mekanisme kerja secara non selektif, dan memiliki kelarutan yang baik pada pelarut organik seperti etanol (Novika *et al.*, 2021). Evaluasi data efikasi, keamanan, dan tolerabilitas ditemukan pada 146.524 pasien dalam 176 penelitian yang disertakan dalam Meta-Analisis Jaringan, menunjukkan bahwa diklofenak (150 mg/hari) cenderung lebih efektif dalam mengurangi nyeri dibandingkan dengan celecoxib (200 mg/hari), naproxen (1000 mg/hari), dan ibuprofen (2400 mg/hari), dan serupa dengan etoricoxib (60 mg/hari). Selain itu, kejadian utama efek samping pada saluran pencernaan bagian atas dengan diklofenak lebih rendah dibandingkan dengan naproxen dan ibuprofen, sebanding dengan celecoxib, dan lebih tinggi daripada etoricoxib (Walsem *et al.*, 2015). celecoxib, dan lebih tinggi daripada etoricoxib (Walsem *et al.*,

2015). Adapun untuk penyakit rematik yang disertai inflamasi dan degeneratif seperti *arthritis reumatoid*, *ankylosing spondylitis*, *osteoarthritis* dan *spondylarthritis* digunakan natrium diklofenak sebagai terapi lini pertama (terapi awal dan akut) (Hamijoyo *et al.*, 2023).

Hasil uji aktivitas antiinflamasi dari beberapa sampel daun tanaman yang diuraikan dalam review ini, dapat diklasifikasikan menjadi dua golongan yaitu berdasarkan nilai persen inhibisi dan nilai *Inhibitory Concentration* (IC₅₀). Persen inhibisi menunjukkan kemampuan menghambat proses denaturasi protein, sedangkan nilai IC₅₀ menunjukkan konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% protein yang terdenaturasi. Nilai

persen inhibisi > 20% dan nilai IC₅₀ paling kecil mengindikasikan efektivitas yang tinggi dari suatu sampel dalam menghambat denaturasi protein BSA karena efektif menghambat denaturasi protein pada konsentrasi yang relatif rendah (Williams *et al.*, 2002).

Tanaman yang memiliki persen inhibisi paling besar di antara artikel yang telah diuraikan pada Tabel 1 yaitu daun mangrove (*Rhizophora mucronata*) pada konsentrasi 400 µg/mL yang menghasilkan persen inhibisi sebesar 97,56%. Adapun tanaman yang memiliki nilai IC₅₀ paling kecil yaitu daun paku (*Pyrrhosia lanceolata*) dengan nilai IC₅₀ sebesar 10,144 µg/mL.

Nirmala, A. R., Permatasari, L., Muliastari, H., Deccati, R. F. (2023). Review: analisis kondisi optimal metode penghambatan denaturasi protein *bovine serum albumin* (BSA) dalam pengujian aktivitas antiinflamasi ekstrak daun. *Journal of Agritechology and Food Processing*, 3(2); 101-113

Tabel 1.
Hasil review pengujian antiinflamasi dengan metode penghambatan denaturasi protein BSA

Sampel	Pelarut BSA	Konsentrasi BSA	Prosedur 1. Inkubasi awal 2. Dipanaskan pada suhu 3. Didinginkan (inkubasi akhir)	Hasil aktivitas antiinflamasi	
Williams et al. (2002)	Daun sirih (<i>Piper betle</i>)	TBS	0,5%	1. Tidak dijelaskan 2. 70 °C (5 menit) 3. IYA	Persen inhibisi chavicol, chavibetol, eugenol, dan iso-eugenol berada pada rentang 80-95%.
Kaur et al. (2018)	Daun, akar, batang, mangrove (<i>Rhizophora mucronata</i>)	Aquades	1%	1. 37 °C (20 menit) 2. 51 °C (20 menit) 3. IYA	IC ₅₀ sampel daun <i>R. mucronata</i> = 237,622 µg/mL IC ₅₀ standar = 268,348 µg/MI
Kumari et al. (2015)	Daun mangrove (<i>Rhizophora mucronata</i>)	Aquades	5%	1. 37 °C (20 menit) 2. Tidak dicantumkan 3. IYA	Persen inhibisi pada konsentrasi 400 µg/mL = <i>R. mucronata</i> = 97,56% Standar = 98,76%
Minarti et al. (2021)	Daun pare (<i>Momordica balsamina</i>)	TBS	0,2%	1. 25 °C (30 menit) 2. 72 °C (5 menit) 3. IYA (25 menit di suhu ruang)	IC ₅₀ sampel <i>M. balsamina</i> = 127,95 µg/mL
Muliati, (2014) [Skripsi]	Daun paku (<i>Pyrrrosia lanceolata</i>)	TBS	0,2%	1. 25 °C (30 menit) 2. 72 °C (5 menit) 3. IYA (25 menit di suhu ruang)	IC ₅₀ sampel daun <i>P. lanceolata</i> = 10,144 µg/mL IC ₅₀ standar = 8,966 µg/mL
Anyasor et al. (2019)	Daun akar darah (<i>Justicia secunda</i>)	PBS	1%	1. 37 °C (20 menit) 2. 70 °C (5 menit) 3. IYA	IC ₅₀ sampel daun <i>J. secunda</i> = 186,20 µg/mL IC ₅₀ standar = 215,50 µg/mL
Mirke et al. (2020)	<i>Eucalyptus globulus</i> oil (daun) & <i>Glycine max</i> oil (biji kedelai) (kombinasi 1:1)	Aquades	1%	1. 37 °C (20 menit) 2. 57 °C (20 menit) 3. IYA	Persen inhibisi sampel pada konsentrasi 1000 µg/mL: 97,28% Persen inhibisi pada

					konsentrasi 100 µg/mL : 30,97%
					Persen inhibisi standar pada konsentrasi 100 µg/mL = 93,01%
Kariawasam et al. (2017)	Daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i>)	PBS	0,5%	1. 37 °C (20 menit) 2. 57 °C (3 menit) 3. IYA	IC ₅₀ sampel daun <i>P. guajava</i> = 50 µg/mL IC ₅₀ standar = 50 µg/mL
Bailey-shaw et al. (2017)	Daun 99 tanaman 5 tanaman dengan %inhibisi besar difraksinasi dgn kromatografi kolom dan diuji lagi	TBS	0,4%	1. Tidak dijelaskan 2.72 °C (10 menit) 3. IYA, 20 menit	Ekstrak <i>Cajanus cajan</i> , <i>Cinnamomum zeylanicum</i> , <i>Cordia alba</i> , <i>Mangifera indica</i> dan <i>Tecoma stans</i> , memiliki persen inhibisi berturut-turut 62,31%; 49,61%;65,47%, 72,60% dan 61,50%
					Persen inhibisi standar = 35,3%
Bakka et al., (2019)	Daun dan buah pistasio (<i>Pistacia atlantica</i>)	Tidak dijelaskan	1%	1. 37 °C (20 menit) 2. 57 °C (3 menit) 3. IYA	Persen inhibisi sampel ekstrak CHCl ₃ <i>P. atlantica</i> pada konsentrasi 10 mg/mL : 98,87%
					Persen inhibisi standar pada konsentrasi 10 mg/mL = 55,56%
Kiranmayi et al., (2018)	Daun pohon bunga kupu-kupu (<i>Bauhinia purpurea</i>)	Aquades	5%	1. 37 °C (20 menit) 2. 57 °C (3 menit) 3. IYA	Persen inhibisi sampel <i>B. purpurea</i> pada konsentrasi 500 µg/mL : 82,2%
					Persen inhibisi standar pada konsentrasi 400 µg/mL = 84,4%
Limsay et al., (2021)	Daun nona makan sirih (<i>Clerodendrum infortunatum</i>)	Tidak dijelaskan	5%	1. 37 °C (20 menit) 2. 57 °C (3 menit) 3. IYA	Persen inhibisi sampel <i>C. infortunatum</i> pada konsentrasi 100 µg/mL : 65,36%

					Persen inhibisi standar pada konsentrasi 100 µg/mL = 94,29%
Hidayah & Hafshah, (2023)	Daun bambu tali (<i>Gigantochloa apus</i>)	TBS	0,2%	1. 37 °C (30 menit) 2. 72 °C (10 menit) 3. IYA Campuran dijaga suhunya pada suhu 32 °C (30 menit) dan disentrifugasi selama 10 menit dengan 600 rpm	IC ₅₀ sampel daun <i>G. apus</i> = 52,991 µg/mL IC ₅₀ standar = 34,168 µg/mL
Anoop & Bindu, (2015)	Daun jambu nasi-nasi (<i>Syzygium zeylanicum</i>)	Aquades	5%	1. 37 °C (20 menit) 2. 57 °C (3 menit) 3. IYA	Pada konsentrasi 100 µg/mL : Sampel ekstrak etil asetat <i>S. zeylanicum</i> = ±75% Standar = ±65% Pada konsentrasi 250 µg/mL : Sampel ekstrak etil asetat <i>S. zeylanicum</i> = ±80% Standar = ±75%
Sunmathi et al., (2016)	Daun kremah (<i>Alternanthera sessili</i>) dan Daun bayam dempo (<i>Alternanthera philoxeroides</i>)	Aquades	0,5%	1. 37 °C (20 menit) 2. 57 °C (3 menit) 3. IYA	Pada konsentrasi 500 µg/mL : <i>A. sessili</i> = 75,43% <i>A. philoxeroides</i> = 64,92% Standar = 100%

SIMPULAN

Berdasarkan beberapa artikel yang telah ditelaah, dapat disimpulkan bahwa kondisi optimal dalam pengujian aktivitas antiinflamasi dengan metode penghambatan denaturasi protein *Bovine Serum Albumin* (BSA) yaitu membuat larutan BSA konsentrasi 0,2% dengan pelarut

TBS, kemudian melakukan inkubasi awal pada suhu ruang (25 °C), lalu diberi perlakuan denaturasi protein dengan pemanasan pada suhu 70 °C, dan didinginkan kembali sebelum diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 660 nm. Perbandingan komposisi larutan BSA dan sampel uji yang digunakan yaitu

Nirmala, A. R., Permatasari, L., Muliastari, H., Deccati, R. F. (2023). Review: analisis kondisi optimal metode penghambatan denaturasi protein *bovine serum albumin* (BSA) dalam pengujian aktivitas antiinflamasi ekstrak daun. *Journal of Agritechology and Food Processing*, **3**(2); 101-113

9:1. Hasil uji aktivitas antiinflamasi dengan metode ini dapat dinyatakan dalam bentuk persen inhibisi ataupun nilai IC₅₀. Sebelum melakukan pengujian dengan metode ini, perlu dipastikan kembali bahwa senyawa aktif yang diduga memiliki aktivitas antiinflamasi, tidak terdegradasi pada suhu pemanasan 70 °C.

DAFTAR PUSTAKA

- Acharya, V. V, & Chaudhuri, P. (2021). Modalities of Protein Denaturation and Nature of Denaturants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, **69**(2), 19–24. <https://doi.org/10.47583/ijpsrr.2021.v69i02.002>
- Aditya, M. R. T., Marisa, D., & Suhartono, E. (2015). Potensi Antiinflamasi Jus Buah Manggis (*Garcinia mangostana*) Terhadap Denaturasi Protein in Vitro. *Berkala Kedokteran*, **11**(2), 149–156.
- Aidoo, D. B., Konja, D., Henneh, I. T., & Ekor, M. (2021). Protective Effect of Bergapten against Human Erythrocyte Hemolysis and Protein Denaturation in Vitro. *International Journal of Inflammation*, **2021**. <https://doi.org/10.1155/2021/1279359>
- Anoop, M. V, & Bindu, A. R. (2015). In-vitro Anti-Inflammatory Activity Studies on *Syzygium zeylanicum* (L.) DC Leaves. *International Journal of Pharma Research & Review*, **4**(8), 18.
- Anyasor, G. N., Okanlawon, A. A., & Ogunbiyi, B. (2019). Evaluation of anti-inflammatory activity of *Justicia secunda* Vahl leaf extract using in vitro and in vivo inflammation models. *Clinical Phytoscience*, **5**(1). <https://doi.org/10.1186/s40816-019-0137-8>
- Bailey-shaw, Y. A., Williams, L. A. D., Green, C. E., Rodney, S., & Smith, A. M. (2017). In-vitro evaluation of the anti-inflammatory potential of selected Jamaican plant extracts using the Bovine Serum albumin protein denaturation assay. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, **47**(1), 145–153.
- Bakka, C., Smara, O., Hadjadj, M., Dendougui, H., Mahdjar, S., & Benzid, A. (2019). In vitro Anti-inflammatory activity of *Pistacia atlantica* Desf. extracts. *Asian Journal of Research in Chemistry*, **12**(6), 322–325. <https://doi.org/10.5958/0974-4150.2019.00059.2>
- Bindu, S., Mazumder, S., & Bandyopadhyay, U. (2020). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochemical Pharmacology*, **180**(January). <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114147>
- Borzova, V. A., Markossian, K. A., Chebotareva, N. A., Kleyenov, S. Y., Poliansky, N. B., Muranov, K. O., Stein-Margolina, V. A., Shubin, V. V., Markov, D. I., & Kurganov, B. I. (2016). Kinetics of thermal denaturation and aggregation of bovine serum albumin. *PLoS ONE*, **11**(4), 1–29. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153495>
- Farida, Y., Deni, R., & Amanda, A. W. (2018). Uji Aktivitas Antiinflamasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak (*Curcuma*

Nirmala, A. R., Permatasari, L., Muliastuti, H., Deccati, R. F. (2023). Review: analisis kondisi optimal metode penghambatan denaturasi protein *bovine serum albumin* (BSA) dalam pengujian aktivitas antiinflamasi ekstrak daun. *Journal of Agritechnology and Food Processing*, **3**(2); 101-113

- xanthorrhiza Roxb.) dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein (Anti-Inflammation Activity Test of Nanoparticles Ethanol Extract of Temulawak Rhizome (Curcuma xanthorrhiza). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, **16**(2), 225–230.
- Ghasemian, M., Owlia, S., & Owlia, M. B. (2016). Review of Anti-Inflammatory Herbal Medicines. *Advances in Pharmacological Sciences*, **2016**. <https://doi.org/10.1155/2016/9130979>
- Hamijoyo, L., Rizkiyah, I., Anggraeni, J., Wahono, C., Ceana, H., Pratama, M., & et al. (2023). *Buku Saku Pelayanan Kefarmasian pada Penyakit Reumatik Autoimun*. hal:12-15.
- Hidayah, N., & Hafshah, M. (2023). In Vitro Anti-inflammatory Activity of Bamboo Tali Leaf (*Gigantochloa apus*) Ethanol Extract. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*, **12**(2), 601–606. <https://doi.org/10.14421/biomedich.2023.122.601-606>
- Kariawasam, K., Pathirana, R., Ratnasooriya, W., Handunnetti, S., & Abeysekera, W. (2017). Phytochemical profile and in vitro anti-inflammatory activity of aqueous leaf extract of Sri Lankan variety of *Psidium guajava* L. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, **6**(4), 22–26. <http://www.phytojournal.com/archives/2017/vol6issue4/PartA/6-3-159-896.pdf>
- Katzung, B. G., Masters, S. B., & Trevor, A. J. (2013). *Farmakologi Dasar & Klinik Edisi 12*. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9).
- Kaur, S., Syed Ali, M., Anuradha, V., Suganya, V., Ashashalini, A., & Bhuvana, P. (2018). In vitro anti-inflammatory activity of mangrove plant *Rhizophora mucronata* Lam. (Malpighiales: Rhizophoraceae). *Brazilian Journal of Biological Sciences*, **5**(10), 417–426. <https://doi.org/10.21472/bjbs.051018>
- Kiranmayi, G. V. N., Anusha, V., Chandrika, Y., Satya Priya, I. V., Santhu Swetha, K. U. B. G., & Krishna, Y. V. (2018). Preliminary phytochemical screening and in vitro evaluation of anti-inflammatory, antiarthritic, and thrombolytic activities of ethanolic leaf extract of *Bauhinia purpurea*. *International Journal of Green Pharmacy*, **12**(1), S241–S247.
- Kumari, C. S., Yasmin, N., Hussain, M. R., & Babuselvam, M. (2015). In vitro anti-inflammatory and anti-artheritic property of *rhizopora mucronata* leaves. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, **6**(3), 482–485.
- Limsay, R. P., Somkuwar, A. P., Bonde, S. W., Kakde, V. K., Shirankar, S. S., Borekar, V. I., & Jagdale, R. A. (2021). In vitro anti-inflammatory activity of *Clerodendrum infortunatum* L. leaves. ~ 1 ~ *The Pharma Innovation Journal*, **10**(9), 10–12. <http://www.thepharmajournal.com>
- Murayama, K., & Tomida, M. (2004). Heat-Induced Secondary Structure And Conformation Change of Bovine Serum Albumin Investigated by Fourier

Nirmala, A. R., Permatasari, L., Muliastuti, H., Deccati, R. F. (2023). Review: analisis kondisi optimal metode penghambatan denaturasi protein *bovine serum albumin* (BSA) dalam pengujian aktivitas antiinflamasi ekstrak daun. *Journal of Agritechology and Food Processing*, **3**(2); 101-113

- Transform Infrared Spectroscopy. *Biochemistry*, **43**(36), 11526–11532.
<https://doi.org/10.1021/bi0489154>
- Minarti, Ritbey, R., & Eva Marlina. (2021). Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Metanol Dun Pare Hutan (*Momordica balsamina* Linn.) Dalam Menghambat Denaturasi Protein. *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, 103–107.
- Mirke, N. B., Shelke, P. S., Malavdkar, P. R., & Jagtap, P. N. (2020). In vitro protein denaturation inhibition assay of *Eucalyptus*. *Innovation in Pharmaceuticals and Pharmacotherapy*, **8**(2), 28–31.
<https://doi.org/10.31690/ipp.2020.v08i02.003>
- Muliati, F. (2014). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Daun Paku *Pyrrosia lanceolata* (L.) Farw. terhadap Penghambatan Denaturasi Protein Secara In Vitro. *Skripsi*.
- Novika, D. S., Ahsanunnisa, R., & Yani, D. F. (2021). Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Penghambatan Denaturasi Protein. *Stannum: Jurnal Sains Dan Terapan Kimia*, **3**(1), 16–22.
<https://doi.org/10.33019/jstk.v3i1.2117>
- Park, J. H., Jackman, J. A., Ferhan, A. R., Ma, G. J., Yoon, B. K., & Cho, N. J. (2018). Temperature-Induced Denaturation of BSA Protein Molecules for Improved Surface Passivation Coatings. *ACS Applied Materials and Interfaces*, **10**(38), 32047–32057.
<https://doi.org/10.1021/acsami.8b13749>
- Ramadhani, N., & Sumiwi, S. A. (2012). Aktivitas Antiinflamasi Berbagai Tanaman Diduga Berasal Dari Flavonoid. *Farmaka*, **14**(2), 111–123.
- Rowlinson, S. W., Kiefer, J. R., Prusakiewicz, J. J., Pawlitz, J. L., Kozak, K. R., Kalgutkar, A. S., Stallings, W. C., Kurumbail, R. G., & Marnett, L. J. (2003). A Novel Mechanism of Cyclooxygenase-2 Inhibition Involving Interactions with Ser-530 and Tyr-385. *Journal of Biological Chemistry*, **278**(46), 45763–45769.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M305481200>
- Sunmathi, D., Sivakumar, R., & Ravikumar, K. (2016). In vitro anti-inflammatory and antiarthritic activity of ethanolic leaf extract of *Alternanthera sessilis* (L.) R. BR. ex DC and *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry*, **5**(2), 109–115.
www.ijapbc.com
- Walsem, A. van, Pandhi, S., Nixon, R. M., Guyot, P., Karabis, A., & Moore, R. A. (2015). Relative Benefit-Risk Comparing Diclofenac to Other Traditional Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs and Cyclooxygenase-2 Inhibitors in Patients With Osteoarthritis or Rheumatoid Arthritis: A Network Meta-Analysis. *Arthritis Research and Therapy*, **17**(1), 1–18.
<https://doi.org/10.1186/s13075-015-0554-0>
- Williams, L. A. D., Vasquez, E. A., Milan, P. P., Zebitz, C., & Kraus, W. (2002). IN VITRO ANTI-Inflammatory And Antimicrobial Activities of Phenylpropanoids

Nirmala, A. R., Permatasari, L., Muliastuti, H., Deccati, R. F. (2023). Review: analisis kondisi optimal metode penghambatan denaturasi protein *bovine serum albumin* (BSA) dalam pengujian aktivitas antiinflamasi ekstrak daun. *Journal of Agritechnology and Food Processing*, **3**(2); 101-113

From *Piper betle* L. (Piperaceae).
Natural Products in the New
Millennium: Prospects and
Industrial Application, 221–227.

Williams, L. A. D., Connar, A. O.,
Latore, L., Dennis, O., Ringer, S.,
Whittaker, J. A., Conrad, J.,
Vogler, B., Rosner, H., Kraus, W.,
Williams, L. A. D., Connar, A. O.,
Latore, L., Dennis, O., Ringer, S.,
Whittaker, J. A., Conrad, J.,

Vogler, B., Rosner, H., & Kraus,
W. (2008). The in vitro Anti-
denaturation Effects Induced by
Natural Products and Non-
steroidal Compounds in Heat
Treated (Immunogenic) Bovine
Serum Albumin is Proposed as a
Screening Assay for the Detection
of Anti-inflammatory Compounds
, without the use of Anim. 57(4),
327–331.