

# **UJI EFEK ANTIARTRITIS EKSTRAK ETANOL 80% KULIT BUAH DELIMA MERAH (*PUNICA GRANATUM L.*) TERHADAP UDEM PADA TELAPAK KAKI TIKUS**

Rusmalita Pebriana Sari, Juheini Amin, Santi Purna Sari

*Universitas Indonesia FMIPA, Departemen Farmasi*

## **ABSTRACT**

### **ABSTRACT**

*Rheumatoid arthritis is a chronic inflammatory disease that can degrade the quality of patient survival. Conventional treatments of this disease have potentially dangerous side effects. Therefore, many patients are turning to alternative medicine using medicinal herbs, one of which is the fruit of Punica granatum L. The aim of this research was to determine antiarthritis effect of 80% ethanolic extract of Punica granatum L. fruit peel which had been given orally on 17-30<sup>th</sup> day based on decreased edema volume and percentage indexes of arthritis. The method was adjuvant induced arthritis by using the complete freund's adjuvant 0,1 mL by subplantar and allowed to arthritis until day 16. The animals test were used 33 male rats of Sprague Dawley strain that were divided into six groups: normal control, positive control, negative control, and three groups had received suspension of 80% ethanolic extract of Punica granatum L. fruit peel in 0,5% CMC at doses 20, 40, and 80 mg/200 g body weight. The Edema volume was measured by plethysmometer on days 17, 20, 23, 26, 29, 31 and indexes of arthritis determined on days 17 and 31. The Results showed that they were not significant difference in the decreased edema volume and the percentage indexes of arthritis, although the percentage inhibition of edema elevated with increasing dose.*

**Keywords:** *Antiarthritis, complete freund's adjuvant, edema volume, indexes of arthritis, Punica granatum L. fruit peel extract*

## **ABSTRAK**

*Artritis reumatoïd merupakan penyakit inflamasi kronik yang dapat menurunkan kualitas hidup penderitanya. Pengobatan konvensional penyakit ini memiliki efek samping yang cukup berbahaya. Oleh karena itu, banyak penderita yang beralih ke pengobatan alternatif dengan menggunakan obat herbal, satu di antaranya adalah buah Punica granatum L. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek*

---

Corresponding author : E-mail : santi\_p2000@yahoo.com

*antiarthritis ekstrak etanol 80% kulit buah Punica granatum L. yang diberikan per oral pada hari ke-17 sampai 30 berdasarkan penurunan volume udem dan persentase indeks arthritis. Metode yang digunakan adalah adjuvant induced arthritis dengan menginduksi complete freund's adjuvant sebanyak 0,1 mL secara subplantar dan dibiarkan arthritis hingga hari ke-16. Hewan uji yang digunakan sebanyak 33 ekor tikus putih jantan galur Sprague Dawley yang terbagi menjadi 6 kelompok yaitu kontrol normal, kontrol positif, kontrol negatif, dan tiga kelompok menerima suspensi ekstrak etanol 80% kulit buah Punica granatum L. dalam CMC 0,5% dengan dosis 20,40, dan 80 mg/200 g bb tikus. Volume udem diukur dengan pletismometer pada hari ke -17, 20, 23, 26, 29, 31 dan indeks arthritis ditetapkan pada hari ke-17 dan 31. Hasil menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna ( $p>0,05$ ) berdasarkan penurunan volume udem dan persentase indeks arthritis, walaupun persentase penghambatan udem rata-ratanya semakin meningkat dengan bertambahnya dosis.*

**Kata kunci :** *Antiarthritis, complete freund's adjuvant, ekstrak kulit buah Punica granatum L., indeks arthritis, volume udem.*

## PENDAHULUAN

Arthritis reumatoïd merupakan penyakit inflamasi sistemik kronik yang terjadi pada persendian dan dapat melibatkan seluruh organ tubuh (Adnan & Daud, 1996). Umumnya disertai rasa nyeri dan Bengkak pada jari-jari, lutut, dan pergelangan (Mulyaningsih & Darmawan, 2006). Penyakit ini tidak menyebabkan kematian namun dapat menurunkan kualitas hidup. Angka kejadiannya meningkat dengan bertambahnya usia, terutama pada perempuan karena adanya faktor keseimbangan hormonal. Puncak terjadinya penyakit ini adalah usia 40-60 tahun (Carter, 2005). Arthritis reumatoïd dapat menyerang orang-orang di seluruh dunia dengan prevalensi sekitar 0,5-1% (Mulyaningsih & Darmawan, 2006).

Obat-obat yang sering digunakan untuk terapi arthritis reumatoid adalah obat golongan DMARD (*disease modifying anti rheumatic drugs*) yaitu metotreksat, leflunomida, dan sulfasalazin (Mulyaningsih & Darmawan, 2006; O'Dell, 2004). Obat golongan ini bersifat antiradang yang kuat. Senyawa-senyawa ini sering dikombinasikan dengan obat golongan antiinflamasi nonsteroid untuk memperkuat efeknya, namun efek samping yang ditimbulkan dari penggunaan obat-obat tersebut cukup berbahaya, yaitu dapat menyebabkan perdarahan pada gastrointestinal, mual, dispepsia, gangguan fungsi ginjal, dan darah (Schwinghammer, 2003; Wilmana & Gan, 2007; Priyanto, 2009). Hal ini mengakibatkan banyak penderita arthritis reumatoïd yang beralih ke pengobatan alternatif dengan meng-

gunakan obat herbal yang memiliki efek samping yang lebih ringan (Mulyaningsih & Darmawan, 2006).

*Punica granatum* atau buah delima merah merupakan satu diantara buah-buahan yang memiliki khasiat dalam mengatasi masalah kesehatan yang terjadi di masyarakat, diantaranya sebagai obat antiarthritis.

Penelitian mengenai buah delima yang telah terbukti secara ilmiah adalah sebagai antiinflamasi yang dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan ekstrak etanol 80% kulit buah delima merah dengan dosis 20 mg/200 g berat badan tikus (Ross, 1999). Hal ini berdasarkan adanya kandungan kulit buah delima yaitu polifenol terutama antosianidin dan elagitanin yang dapat menghambat aktivitas siklookogenase melalui penghambatan ekspresi fosfolipase (Lansky & Newman, 2006). Selain itu, berdasarkan penelitian sebelumnya, ekstrak buah delima memiliki efek penghambatan *p-38-mitogen activated protein kinase* (*p38-MAPK*) dan *NF-κB* (*nuclear factor kappa B*) yang berhubungan dengan pembentukan *TNF-α* (*tumor necrosis factor alpha*), *IL-1β* (*interleukin-1β*), *MCP1* (*monocyte chemotactic protein-1*), *iNOS* (*inducible nitric oxide synthase*) dan *COX-2* (*cyclooxygenase-2*) yang merupakan mediator inflamasi dan penyakit persendian degeneratif (Shukla, Gupta, Rasheed, Khan & Haqqi, 2008).

Berdasarkan hal tersebut, kulit buah delima merah diduga juga memiliki khasiat antiarthritis. Kan-

dungan-kandungan zat aktif kulit buah delima merah hampir sama dengan buahnya, sehingga mungkin memiliki efek yang sama. Penelitian mengenai uji antiarthritis kulit buah delima merah pun masih terbatas, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai khasiat tersebut. Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol 80% kulit buah delima merah yang diberikan pada tikus putih jantan yang diinduksi oleh *complete freund's adjuvant* yang mengandung *Mycobacterium tuberculosis* kering yang telah dimatikan. Hasil penelitian yang diperoleh diharapkan dapat diaplikasikan kepada manusia sebagai alternatif pengobatan artritis reumatoïd.

Penelitian ini bertujuan mengetahui efek antiarthritis ekstrak etanol 80% kulit buah delima merah (*Punica granatum* L.) yang diberikan secara oral terhadap udem pada telapak kaki tikus putih jantan yang diinduksi dengan *complete freund's adjuvant* ditinjau dari penurunan volume udem dan persentase indeks artritis.

## METODE

### Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pletismometer, jarum suntik 27 G1/2 (Terumo (Philippines) Corporation, Filipina), sputit 1; 5 ml (Terumo (Philippines) Corporation, Filipina), sonde oral, timbangan analitik (Ohaus, USA), timbangan hewan (A&D, Jepang), dan alat-alat gelas.

Bahan	Cara Kerja
<b>Hewan Uji</b>	<b>Rancangan Penelitian</b>
Pada penelitian ini digunakan hewan uji tikus putih jantan ( <i>Ratus novergicus</i> L) galur <i>Sprague Dawley</i> (SD) yang berumur lebih kurang 2 bulan dengan berat badan 150-200 gram sebanyak 33 ekor. Tikus putih tersebut diperoleh dari Bagian Non Ruminansia dan Satwa Harapan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.	Penelitian dilakukan dengan metode <i>adjuvant-induced arthritis</i> (Mulyaningsih & Darmawan, 2006). Pengamatan efek antiarthritis dilakukan berdasarkan penurunan volume udem pada telapak kaki kiri (Woode <i>et al.</i> 2008) dan parameter pengamatan indeks artritis (Smit, 2000) pada tikus putih yang diinjeksi 0,1 mL <i>complete freund's adjuvant</i> secara subplantar pada hari ke-1 dan mendapatkan ekstrak kulit buah delima merah ( <i>Punica granatum</i> L.) pada hari ke-17 sampai hari ke-30. Pengukuran volume udem pada telapak tikus tersebut menggunakan alat pletismometer sederhana (Woode <i>et al.</i> 2008). Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap yaitu uji pendahuluan dan uji antiarthritis sebenarnya.
<b>Bahan Uji</b>	<b>Uji Pendahuluan</b>
Bahan uji yang digunakan adalah ekstrak etanol 80% kulit buah <i>Punica granatum</i> L yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. Buah yang digunakan telah dideterminasi di Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia dan telah di uji secara fitokimia di Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik.	Pada penelitian ini, uji pendahuluan dilakukan untuk menentukan volume pemberian <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA) yang menunjukkan gejala arthritis yang jelas dan dapat diamati. Tikus putih jantan dibagi menjadi tiga kelompok, masing-masing terdiri dari tiga ekor. Tiap kelompok diberikan injeksi CFA secara subplantar dengan volume berturut-turut sebanyak 0,05; 0,1; 0,2 mL pada hari pertama. Pengamatan terjadinya artritis reumatoid dilakukan selama 16 hari.
<b>Bahan Kimia</b>	
Bahan-bahan yang digunakan adalah <i>complete freund's adjuvant</i> (CFA) yang mengandung <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (Sigma-Aldrich, USA), larutan NaCl 0,9% steril (PT. Otsuka Indonesia), Natrium diklofenak (Yung Zip Chemical Ind. Co., Ltd., Taiwan ), alkohol 70% (PT. Jayamas Medica Industri Indonesia), Karboksimetilselulosa/CMC (Daiichi Kogyo Seiyaku Co., Ltd., Jepang), dan aquadest.	

### ***Uji Antiarthritis***

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 kelompok perlakuan. Tiga kelompok tikus mendapatkan suspensi obat uji dalam CMC 0,5 % secara oral dengan variasi dosis yang ditentukan, satu kelompok diberi obat pembanding natrium diklofenak dalam CMC 0,5 % sebagai kontrol positif, satu kelompok sebagai kontrol negatif diberikan CMC 0,5 %, dan satu kelompok sebagai kontrol normal yang tidak diinduksi CFA, hanya mendapatkan CMC 0,5 %. Masing-masing kelompok terdiri atas 4 ekor tikus putih jantan.

### **Persiapan Hewan Uji**

Penelitian ini menggunakan enam kelompok perlakuan, masing-

masing terdiri atas 4 ekor tikus putih jantan. Hal ini berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus Federer (Jusman & Halim, 2009) sebagai berikut:

$$(t-1) (n-1) > 15$$

Dimana:

t adalah jumlah perlakuan  
n adalah jumlah pengulangan untuk tiap perlakuan

Pada penelitian ini, t = 6, maka n > 4, sehingga jumlah minimum tikus yang digunakan dalam tiap kelompok adalah 4 ekor. Tikus yang digunakan adalah tikus jantan galur *Sprague Dawley*.

Sebelum digunakan, tikus diadaptasikan (diaklimatisasi) selama

**Tabel 1.** Kelompok perlakuan uji antiarthritis

No.	n (ekor)	Kelompok	Perlakuan
1	4	Uji I	Hari ke-1 disuntik 0,1 ml CFA, hari ke-17 sampai 30 diberi 3 ml suspensi ekstrak kulit buah delima dalam CMC 0,5% dosis 20 mg/200 g bb per oral
2	4	Uji II	Hari ke-1 disuntik 0,1 ml CFA, hari ke-17 sampai 30 diberi 3 ml suspensi ekstrak kulit buah delima dalam CMC 0,5% dosis 40 mg/200 g bb per oral
3	4	Uji III	Hari ke-1 disuntik 0,1 ml CFA, hari ke -17 sampai 30 diberi 3 ml suspensi ekstrak kulit buah delima dalam CMC 0,5% dosis 80 mg/200g bb per oral
4	4	Kontrol Positif	Hari ke-1 disuntik 0,1 ml CFA, hari ke-17 sampai 30 diberi 3 ml suspensi natrium diklofenak dalam CMC 0,5% dosis 9 mg/200 g bb per oral
5	4	Kontrol Negatif	Hari ke-1 disuntik 0,1 ml CFA, hari ke-17 sampai 30 diberi 3 ml suspensi CMC 0,5%
6	4	Kontrol Normal	Hari ke-1 disuntik 0,1 ml larutan salin, hari ke -17 sampai 30 diberi 3 ml suspensi CMC 0,5%

dua minggu di dalam kandang Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan baru. Tikus diberi makan dan minum yang seragam dan dilakukan pengamatan rutin terhadap keadaan umum dan penimbangan berat badan tikus. Tikus yang sehat memiliki ciri-ciri bulu bersih dan tidak berdiri, mata jernih bersinar, dan berat badan bertambah setiap hari. Tikus yang dinyatakan sehat dikelompokan secara acak dengan jumlah empat ekor untuk tiap kelompoknya.

### **Penetapan Dosis Uji**

#### **Dosis Ekstrak Etanol 80% Kulit Buah Delima**

Dosis uji didapatkan berdasarkan literatur. Dosis ekstrak etanol 80% kulit buah delima yaitu 20 mg/200 g berat badan tikus (Ross, 1999). Dosis II dan III dibuat dengan kelipatan 2 dan 4 dari dosis I.

Hasil perhitungan dosis:

Dosis I = 20 mg/200 g bb

Dosis II = 40 mg/200 g bb

Dosis III= 80 mg/200 g bb

#### **Dosis Natrium Diklofenak**

Dosis harian obat pembanding natrium diklofenak setelah dikonversi dari manusia ke tikus adalah sebesar 27 mg/200 g berat badan tikus, namun karena obat tersebut diberikan selama 14 hari maka dosis yang digunakan adalah dosis untuk

satu kali minum yaitu sebesar 9 mg/200 g berat badan tikus. Masing-masing dosis obat uji disuspensikan dengan CMC 0,5%.

### **Pembuatan Suspensi Bahan Uji**

Ekstrak kulit buah delima merah disuspensikan dalam CMC 0,5% dengan dosis III, kemudian dicincerkan dengan CMC 0,5% menjadi dosis I dan dosis II. Tikus dengan berat badan 200 g diberikan suspensi larutan uji sebanyak 3 mL per oral untuk tiap perlakuan.

### **Pelaksanaan Percobaan**

#### **Prinsip Metode**

Penelitian ini menggunakan metode *adjuvant-induced arthritis* (10) dengan menyuntikan *complete freund's adjuvant* (CFA) pada daerah plantar aponeurosis (subplantar) di kaki kiri belakang tikus. Pengamatan efek antiarthritis ditunjukkan berdasarkan penurunan volume udem pada telapak kaki dengan menggunakan alat pletismometer (Woode *et al.* 2008). Selain itu, pada percobaan ini diamati pula efek penurunan indeks arthritis reumatoid dengan menghitung persentase indeks artritis pada setiap kelompok selama percobaan (Smit, 2000). Pengamatan volume kaki dilakukan pada hari ke-1 sebelum induksi dengan CFA, hari ke-17, 20, 23, 26, 29 dan 31 (Asomas, Prasad, Thomas & Kamath, 2007). Pengukuran indeks artritis dilakukan pada hari ke-17 dan ke-31 (Mulyaningsih & Darmawan, 2006).

## Prosedur Uji Antiarthritis (Mulyaningsih & Darmawan, 2006)

Pada hari pengujian, tikus ditimbang bobotnya dan dikelompokkan secara acak; ada enam kelompok tikus dengan jumlah tikus masing-masing kelompok adalah 4 ekor. Setiap tikus dalam semua kelompok, pada hari ke-1, diukur volume kaki kiri belakang yang akan disuntik CFA, kecuali salin untuk kontrol normal. Pada kelompok kontrol negatif, setiap tikus pada hari ke-1 disuntik 0,1 mL CFA pada telapak kaki kiri bagian belakang dan dibiarkan sampai dengan hari ke-16. Pada hari ke-17 sampai 30 diberi 3 mL suspensi CMC 0,5% secara oral. Pada kelompok kontrol positif, setiap tikus pada hari ke -1 disuntik 0,1 mL CFA pada telapak kaki kiri bagian belakang dan dibiarkan sampai dengan hari ke-16. Pada hari ke-17 sampai 30 diberi 3 mL suspensi obat standar natrium diklofenak 9 mg/200 g dalam CMC 0,5% berat badan tikus secara oral. Pada kelompok obat uji dosis I, II, dan III, setiap tikus pada hari ke-1 disuntik 0,1 mL CFA pada telapak kaki kiri bagian belakang dan dibiarkan sampai dengan hari ke-16. Pada hari ke-17 sampai 30 diberi 3 ml suspensi obat uji dalam CMC 0,5% sesuai dosis yang diinginkan secara oral. Pada kelompok kontrol normal, masing-masing tikus pada hari ke-1 disuntik 0,1 mL larutan salin pada telapak kaki kiri bagian belakang dan dibiarkan sampai dengan hari ke-16. Pada hari ke-17 sampai 30 diberi 3 mL suspensi CMC 0,5%. Volume kaki

diukur dengan cara mencelupkannya ke dalam alat pletismometer pada hari ke-1 sebelum induksi dengan CFA, hari ke-17, 20, 23, 26, 29, dan hari ke-31. Selain itu, indeks artritis ditetapkan pada hari ke-17 dan ke-31 berdasarkan parameter pengamatan indeks artritis pada telapak kaki yang disuntik CFA. Semua data yang diperoleh dianalisis dengan statistik terhadap volume udem dan persentase indeks artritis.

## Pengolahan Data

Data yang diperoleh yaitu volume udem dan indeks artritis. Data volume udem tiap kelompok perlakuan dianalisis secara statistik dengan menggunakan SPSS 15.0. Data ini diuji dengan metode *Sapiro-Wilk* untuk melihat distribusi data dan metode Levene untuk melihat homogenitas data. Untuk menganalisis data yang terdistribusi normal dan homogen digunakan metode Analisis Varian (ANAVA) satu arah dengan taraf kepercayaan 95% sehingga dapat diketahui apakah perbedaan yang diperoleh bermakna atau tidak (Dahlan, 2009).

Efek obat antiarthritis dinilai dari persentase penghambatan udem yang ditimbulkan oleh *complete Freund's adjuvant* yang dihitung dengan cara sebagai berikut (BPOM, 1993).

$$\% \text{ Penghambatan udem rata-rata} =$$

$$\left[ 1 - \frac{a - x}{b - y} \right] \times 100 \%$$

Keterangan:

- a adalah rata-rata volume kaki tikus setelah diinduksi pada kelompok tikus yang diberi obat
- x adalah rata-rata volume kaki tikus sebelum diinduksi pada kelomikus yang diberi obat
- b adalah rata-rata volume kaki tikus setelah diinduksi pada kelompok tikus yang tidak diberi obat (kontrol negatif)
- y adalah rata-rata volume kaki tikus sebelum diinduksi pada kelompok tikus yang tidak diberi obat (kontrol negatif)

Selain itu, masing-masing tikus dari tiap kelompok diamati indeks skala terjadinya artritis. Kemudian, dibuat persentase tikus yang mengalami indeks artritis terhadap kontrol normal (Mulyaningsih & Darmawan, 2006). Hasil pengamatan dari persentase indeks artritis yang didapatkan untuk tiap kelompok kemudian dibandingkan dengan menggunakan analisis statistika Analisis Varian (ANOVA) satu arah dan dilanjutkan dengan uji t sehingga dapat disimpulkan apakah perbedaan yang diperoleh bermakna. Adapun parameter pengamatan indeks artritis dapat dilihat pada Tabel 2.

Persentase tikus artritis =

$$\frac{\sum \text{Tikus dengan indeks artritis} > 1}{\sum \text{Tikus dalam kontrol normal}} \times 100 \%$$

Tikus dinyatakan artritis reumatoid jika memiliki indeks artritis  $> 1$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui volume *complete Freund's adjuvant* yang menghasilkan artritis yang jelas dan mudah diamati. Masing-masing kelompok diinduksi CFA secara subplantar dengan volume berturut-turut sebanyak 0,05; 0,1; dan 0,2 mL. Volume kaki rata-rata yang dihasilkan tiap kelompok perlakuan pada hari ke-8, 10, 13, 14, dan 16 dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 1.

Volume udem terbesar dihasilkan oleh injeksi CFA sebanyak 0,2 mL, namun pada kelompok ini tikus mengalami kematian sehingga volume CFA yang dipilih sebesar 0,1 mL karena artritis yang terbentuk cukup jelas dan mudah diamati.

Pada penelitian ini terlihat bahwa onset terjadinya artritis rheumatoid terjadi pada hari ke-8 yang ditandai dengan telapak dan pergelangan kaki yang bengkak dan merah serta adanya bengkak di sendi-sendi jari kaki. Berdasarkan literatur, onset terjadinya artritis reumatoid adalah pada hari ke-9 setelah diinduksi CFA (Bendele, 2001). Perbedaan ini dikarenakan oleh adanya perbedaan galur tikus dan variasi biologis. Menurut Woode et.al., ada dua fase terjadinya artritis yaitu fase akut dan fase kronis. Fase akut terjadi pada hari 0-10 dan terjadi puncak udem sekitar hari ke-4 sampai 6. Fase kronis dimulai hari ke-10 hingga hari

**Tabel 2.** Parameter pengamatan indeks arthritis

No.	Gejala artritis yang nampak pada tikus	Skor
1	Bengkak dan merah pada 1 jari kaki	0,25
2	Bengkak dan merah sedikitnya 2 jari kaki	0,50
3	Bengkak pada telapak kaki	0,75
4	Bengkak dan merah pada jari kaki dan perubahan bentuk pada telapak kaki	1,00
5	Bengkak dan merah pada jari kaki dan telapak kaki	1,25
6	Bengkak dan merah pada jari kaki dan sedikit bengkak pada sebagian telapak dan pergelangan kaki	1,50
7	Bengkak dan merah pada jari dan telapak kaki serta bengkak pada hampir seluruh telapak dan pergelangan kaki	1,75
8	Bengkak dan merah pada jari kaki, telapak, dan pergelangan kaki	2,00

[Sumber: Smit, 2000]

**Tabel 3.** Volume kaki rata-rata pada telapak kaki tikus yang ditimbulkan oleh induksi 0,05; 0,1; 0,2 mL *complete freund's adjuvant* (CFA) secara subplantar

Perlakuan	Volume Kaki (ml)				
	Hari-8	Hari-10	Hari-13	Hari-14	Hari-16
0,05 ml	0,0308	0,0337	0,0332	0,0327	0,0338
0,1 ml	0,0368	0,0362	0,0363	0,0352	0,0392
0,2 ml	0,0426	0,0423	0,0403	0,0457	0,0429

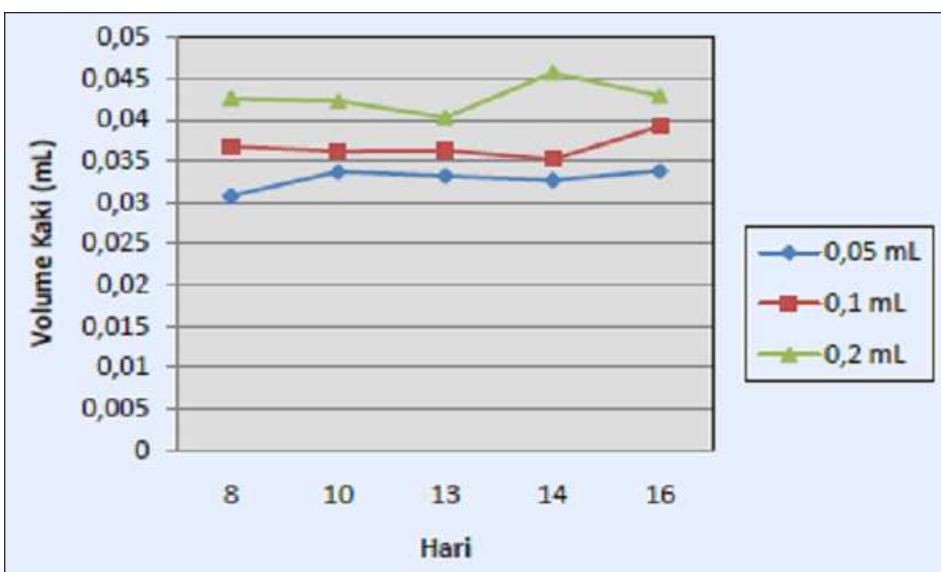
ke-28 yang ditandai dengan terjadinya poliartritis dan udem pada daerah kaki.

### Uji Antiarthritis

Pada uji antiarthritis ekstrak kulit buah delima ini, tikus dibagi menjadi enam kelompok ( $n=4$ ) yaitu kontrol normal, kontrol positif, kontrol negatif, dan tiga kelompok mendapatkan suspensi ekstrak kulit buah delima. Pada hari pertama, tikus diinduksi *complete freund's adjuvant* sebanyak 0,1 mL dan dibiarkan

hingga hari ke-16. Hal ini bertujuan agar tikus mengalami arthritis dengan indeks artritis > 1 dengan gejala yaitu bengkak dan merah di jari kaki, serta terjadi perubahan bentuk pada telapak kaki (Mulyaningsih & Darmawan, 2006).

Pada penelitian ini, kontrol positif natrium diklofenak dengan dosis 9 mg/200 g berat badan tidak dapat digunakan sebagai pembanding aktivitas antiarthritis ekstrak kulit buah delima karena tikus dalam kelompok tersebut mengalami ke-



**Gambar 1.** Grafik volume kaki pada telapak kaki tikus yang ditimbulkan oleh induksi 0,05; 0,1; 0,2 ml *complete freund's adjuvant* (CFA) secara subplantar.

matian (Tabel 4). Tikus ini mati karena efek penghambatan sintesis prostaglandin yang kuat sehingga efek samping yang dihasilkan cukup besar, satu diantaranya adalah perdarahan yang terjadi di hidung. Perdarahan yang terjadi pada tikus disebabkan oleh penghambatan siklookksigenase-1 yang berperan terhadap pembentukan tromboksan sehingga terjadi penurunan agregasi trombosit (Wilmana & Gan, 2007). Efek samping ini bertambah parah karena pemberian natrium diklofenak dilakukan setiap hari selama 14 hari. Dalam hal ini, perlu dilakukan pemilihan obat antiarthritis reumatoid yang tepat dan aman untuk penggunaan jangka panjang, seperti ibuprofen (Utsinger, Zvaifler & Ehrlich, 1985).

Pengukuran volume udem dilakukan pada hari ke-17, 20, 23, 26, 29, dan 31. Hal ini bertujuan agar perubahan volume udem yang terjadi akibat pemberian larutan uji dapat diamati secara signifikan. Penetapan indeks artritis dilakukan pada hari ke-17 dan ke-31 untuk mengamati perubahan persentase tikus yang mengalami indeks artritis sebelum dan setelah mendapatkan perlakuan selama waktu 14 hari. Volume udem yang dihasilkan oleh tiap kelompok perlakuan pada hari ke-17, 20, 23, 26, 29, dan 31 dapat dilihat pada Tabel 5, Tabel 6, dan Gambar 2. Selain itu, untuk persentase penghambatan udemnya dapat dilihat pada Gambar 3.

Pengamatan indeks artritis dilakukan hari ke -17 dan 31. Pada

**Tabel 4.** Volume udem pada pemberian natrium diklofenak dengan dosis 9 mg/200 gram berat badan tikus per oral, pada hari ke-17 sampai 31 setelah diinduksi dengan 0,1 ml *complete freund's adjuvant* (CFA) pada telapak kaki tikus

Perlakuan	Tikus	Volume Udem (ml)					
		Hari-17	Hari-20	Hari-23	Hari-26	Hari-29	Hari-31
Natrium diklofenak	1	0,0140	-	-	-	-	-
	2	0,0095	0,0038	-	-	-	-
	3	0,0135	0,0073	-	-	-	-
	4	0,0110	0,0060	-	-	-	-

Keterangan: tanda (-) = tikus mengalami kematian

**Tabel 5.** Volume udem rata-rata pada pemberian larutan uji dosis I, II, III, dan control negatif per oral, pada hari ke-17 sampai 31 setelah diinduksi dengan 0,1 ml *complete freund's adjuvant* (CFA) pada telapak kaki tikus

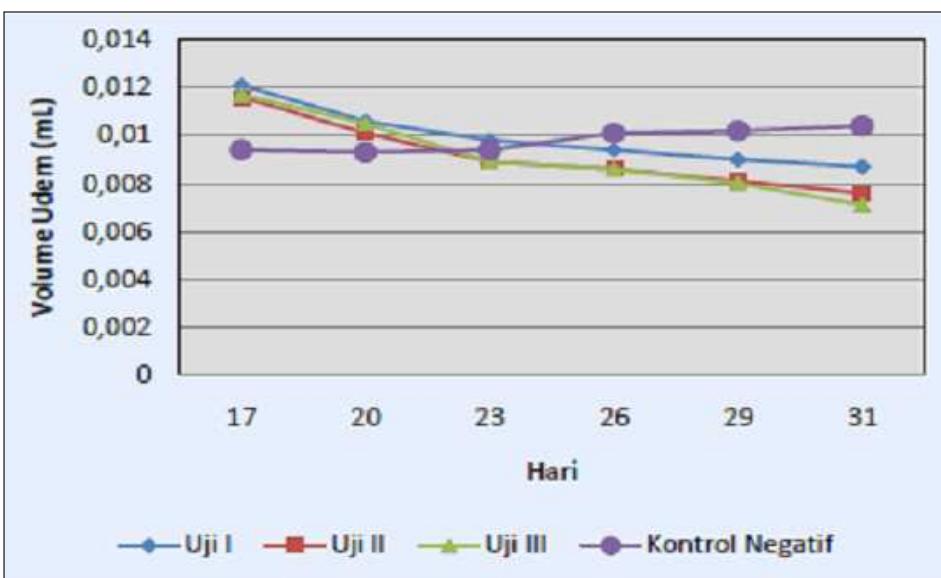
Kelompok	Rata-rata Volume Udem (ml)					
	Hari-17	Hari-20	Hari-23	Hari-26	Hari-29	Hari-31
Uji I	0,0121	0,0106	0,0098	0,0094	0,0090	0,0087
Uji II	0,0116	0,0101	0,0089	0,0086	0,0081	0,0076
Uji III	0,0117	0,0105	0,0089	0,0086	0,0080	0,0071
Kontrol Negatif	0,0094	0,0093	0,0094	0,0101	0,0102	0,0104

**Tabel 6.** Persentase penghambatan udem rata-rata pada pemberian larutan uji dosis I, II, III, dan kontrol negatif per oral, pada hari ke-17 sampai 31 setelah diinduksi dengan 0,1 ml *complete freund's adjuvant* (CFA) pada telapak kaki tikus

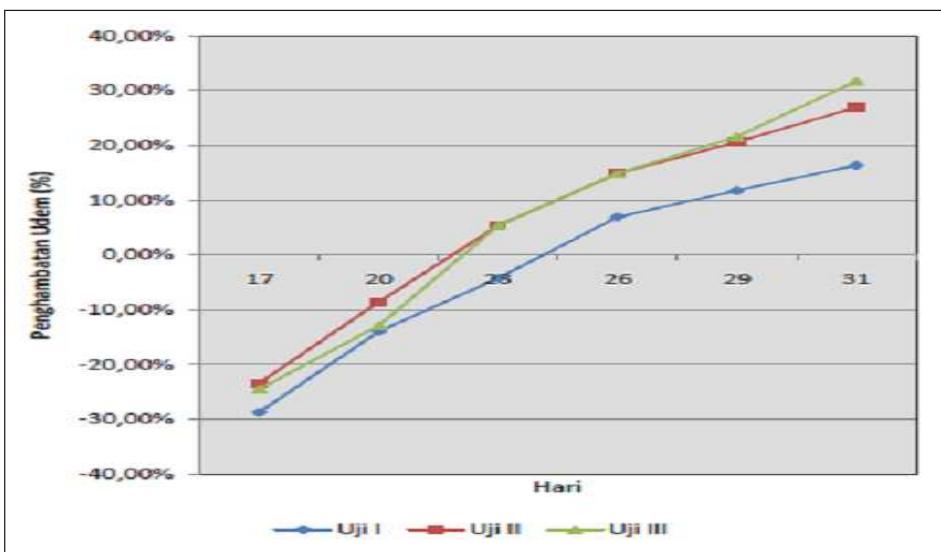
Kelompok	Persentase Penghambatan udem					
	Hari-17	Hari-20	Hari-23	Hari-26	Hari-29	Hari-31
Uji I	-28,72%	-13,98%	-4,26%	6,93%	11,76%	16,35%
Uji II	-23,40%	-8,60%	5,32%	14,85%	20,59%	26,92%
Uji III	-24,47%	-12,90%	5,32%	14,85%	21,57%	31,73%

hari ke-17, persentase indeks semua kelompok perlakuan adalah 100%. Hal ini menunjukkan bahwa tikus dalam setiap kelompok menderita arthritis reumatoid, kecuali pada kelompok kontrol normal yaitu 0% karena tidak diinduksi CFA. Hari

ke-31, kelompok yang mendapatkan suspensi larutan uji I, II, dan III tetap memiliki persentase indeks artritis sebesar 100%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah delima merah dengan dosis 20, 40, dan 80 mg/200 g berat badan tikus tidak



**Gambar 2.** Grafik perbandingan volume udem rata-rata pada pemberian larutan uji dosis I, II, III, dan kontrol negatif per oral, pada hari ke-17 sampai 31 setelah diinduksi dengan 0,1 ml *complete freund's adjuvant* (CFA) pada telapak kaki tikus.



**Gambar 3.** Grafik persentase penghambatan udem rata-rata pada pemberian larutan uji dosis I, II, III, dan kontrol negatif per oral, pada hari ke-17 sampai 31 setelah diinduksi dengan 0,1 ml *complete freund's adjuvant* (CFA) pada telapak kaki tikus.

dapat menurunkan persentase tikus yang mengalami artritis.

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa pemberian ekstrak kulit buah delima merah dengan dosis 20, 40, dan 80 mg/ 200 g bb menunjukkan persentase penghambatan volume udem yang semakin meningkat hingga hari ke-31 mencapai 16,35% untuk larutan uji I, 26,92% untuk larutan uji II, dan 31,73% untuk larutan uji III, namun tidak memberikan perubahan yang signifikan terhadap volume udem selama 14 hari pemberian ekstrak. Selain itu, pada persentase indeks artritis sebelum (hari ke-17) dan sesudah (hari ke-31) pemberian ekstrak juga menunjukkan jumlah yang sama yaitu 100% sehingga tidak dilakukan analisis statistik. Hal ini dapat disebabkan kelipatan dosis yang kurang besar sehingga efek yang dihasilkan kurang optimal dan waktu pemberian ekstrak kulit buah delima yang kurang lama sehingga tidak mampu untuk mengobati inflamasi yang bersifat kronis dengan efektif. Selain itu, kadar senyawa berkhasiat ekstrak kulit buah delima yang digunakan cukup kecil, 0,25 % untuk flavonoid yang dihitung sebagai kuersetin dan 9,34 % untuk tanin total sehingga aktivitas antiarthritis yang dihasilkan pun kecil.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Lansky & Newman (2006) dihasilkan bahwa kandungan polifenol yaitu elagitanin dan anto-

sianidin yang terdapat dalam ekstrak kulit buah *Punica granatum* L. memiliki aktivitas penghambatan TNF- $\alpha$  yang menginduksi ekspresi dari siklooksigenase-2 yang menyebabkan inflamasi. Secara *in vitro*, kulit buah delima merah dapat menghambat fosfolipase A2 pada sel kanker prostat manusia. Selain itu, ekstrak buah delima dapat menghambat pelepasan mediator inflamasi dan penyakit persendian degeneratif yaitu p38 -MAPK dan NF- $\kappa$ B yang berhubungan dengan pembentukan TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , iNOS, dan COX-2 (Shukla, Gupta, Rasheed, Khan & Haqqi, 2008).

Berdasarkan analisis statistik, data volume udem pada hari ke -17, 20, 23, 26, 29, dan 31 untuk uji I, II, III, dan kontrol negatif memenuhi persyaratan uji distribusi normal dan terdistribusi homogen. Analisis ini dilakukan untuk kelayakan data pada uji parametrik, yaitu data berasal dari populasi yang terdistribusi normal dan varians data harus sama. Apabila keduapersyaratan terpenuhi maka uji parametrik yang sesuai adalah analisis varians satu arah (Dahlan, 2009). Setelah dilakukan uji ANAVA satu arah didapatkan hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara volume udem tiap kelompok perlakuan ( $p>0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan aktivitas antiarthritis yang dihasilkan oleh ekstrak kulit buah delima pada tiap kelompok perlakuan.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian uji antiarthritis dengan metode *adjuvant induced arthritis*, diketahui bahwa pemberian suspensi ekstrak etanol 80% kulit buah *Punica granatum* L. dalam CMC 0,5% yang diberikan secara oral dengan dosis 20, 40, 80 mg/200 gram bb tikus tidak memiliki efek antiarthritis yang bermakna ( $p>0,05$ ) ditinjau dari penurunan volume udem dan persentase indeks arthritis. Pada penelitian ini dihasilkan penurunan volume udem rata-rata yang meningkat dengan bertambahnya dosis.

## DAFTAR ACUAN

- Adnan H, Daud R. 1996. Arthritis reumatoïd. Dalam S. Noer, *Buku ajar ilmu penyakit dalam*, 3 ed. Balai Penerbit FKUI. Jakarta, 1 : 62-65.
- Asomas M, Prasad K, Thomas L, Kamath J. 2007. Evaluation of analgesics and anti-inflammatory activity of Sudard, a poly -herbal formulation. *IJPT* , 6(1): 71-75.
- Bendele A. 2001. Animal models of rheumatoid arthritis. *J. Musculoskel Neuron Interact.*, 1(4): 377-385.
- BPOM. 1993. *Penapisan farmakologi, pengujian fitokimia dan pengujian klinik. Pengembangan dan Pemanfaatan Obat Bahan Alam*. Jakarta. 43-45.
- Carter M. 2005. Arthritis reumatoïd. Dalam S. Price, & L. Wilson, *Patofisiologi: konsep klinis proses-proses penyakit* 6 ed., Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. II: 1385-1387
- Dahlan M. 2009. *Statistik untuk kedokteran dan kesehatan: Deskriptif, bivariat, dan multivariat dilengkapi program SPSS*. Salemba Medika. Jakarta. 84-89.
- Jurenka J. 2008. Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum* L.) : A Review. *Altern. Med. Rev.*, 13(2): 128-144.
- Jusman SW, Halim A. 2009. Oxidative stress in liver tissue of rat induced by chronic systemic hypoxia. *Makara kesehatan*, 13(1): 34-38.
- Lansky E, Newman R. 2006. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *J. Ethnopharmacol*, 1-30.
- Mulyaningsih S, Darmawan E. 2006. Efek anti arthritis pisang ambon (*Musa paradisiacal sapientum* L.) dan lidah buaya (*Aloe vera* L.) terhadap adjuvantinduced arthritic pada tikus. *Biodiversitas*, 7(3): 273-277.
- Priyanto. 2009. *Farmakoterapi dan terminologi medis*. Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi. Depok.134-142.
- Ross I. 1999. *Medicinal plants of the world* (Vol. I). Humana Press. New Jersey. 273-281.
- Schwinghammer T. 2003. Bone and joint disorders. Dalam B. Wells, J. Dipiro, T. Schwinghammer, & C. Hamilton ( Eds.), *Pharmacology*.

- therapy handbook* (5<sup>th</sup> ed.). The McGraw Hill Companies. United State of America. 27-34
- 1Shukla M, Gupta K, Rasheed Z, Khan K., Haqqi T. 2008. Bio-available constituents/metabolites of pomegranate (*Punica granatum L.*) preferentially inhibit COX2 activity ex vivo and IL-1 beta-induced PGE2 production in human chondrocytes in vitro. *J. Inflamm*, **5**(9): 1-10.
- Smit F. 2000. *Picrorhiza scrophulariiflora from traditional use to immunomodulatory*. Utrecht: Rijksuniversiteit Utrecht, 71-79.
- Utsinger P, Zvaifler N., Ehrlich G. 1985. *Rheumatoid arthritis*. J.B Lippincott Company. Philadelphia. 71 -77, 555-568.
- Wilmana P, Gan S. 2007. Analgesik-antipiretik analgesik anti - inflamasi nonsteroid dan obat gangguan sendi lainnya. Dalam S. Gan (Ed.), *Farmakologi dan terapi*, V ed. Gaya Baru. Jakarta. 230-246.
- Woode E, Ainooson GK, Gyasi EB, Ansah C, Obiri DD, Koffour GA, Mensah A., Duwiejua M. 2008. Anti-arthritis and antioxidant properties of the ethanolic stem bark extract of *Newbouldia laevis* (P.Beauv.)