

Uji Efek Antiinflamasi Fraksi Air Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Shecfff.) Boerl.) terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.)

Aprilita Rinayanti¹, Ema Dewanti¹, Melisha Adelina H¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Tujuh Belas Agustus, Jakarta

Email : aprilita.rinayanti@gmail.com

Abstrak

Inflamasi adalah usaha tubuh untuk mengeliminasi organisme asing yang masuk ke dalam tubuh, menghilangkan zat iritan dan mengatur perbaikan jaringan. Salah satu tanaman obat yang digunakan secara empirik sebagai antiinflamasi adalah daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Shecfff.) Boerl.). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antiinflamasi fraksi air daun mahkota dewa terhadap udem yang ditimbulkan oleh karagenan pada telapak kaki tikus. Pengukuran aktivitas antiinflamasi fraksi air daun mahkota dewa menggunakan lima kelompok hewan uji yang terbagi menjadi kelompok kontrol, kelompok pembanding, dan kelompok uji yang terdiri dari tiga dosis uji yaitu 0,5 g/kgBB, 1 g/kgBB, dan 2 g/kgBB. Ketiga dosis uji dapat menghambat pembentukan radang dengan presentasi berturut-turut, yaitu 27,35%, 18,58%, dan 20,17%. Persentase penghambatan udem tertinggi dihasilkan oleh fraksi air daun mahkota dewa pada dosis 0,5 g/kg BB.

Abstract

Inflammation occurs as the attempt of body to inactivate organisms that attack the body, removing irritants and regulate tissue repair. One of the medicinal plants used empirically as antiinflammation is the leaf of Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Shecfff.) Boerl.). This study investigated the effect of anti-inflammatory water fraction of leaf Mahkota Dewa using oedema induction method with caragenin in rat. Water fraction of Mahkota Dewa was given at the dose 0.5 g/kg BW, 1 g/kg BW and 2 g/kg BW. Sodium diclofenac was used as a positive control and CMC as negative control. The result showed water fractions of three doses can inhibit inflammation at 27.35%, 18.58%, and 20.17%, respectively. The water fraction at the dose 0.5 g/kgBW showed the largest percentage of oedema inhibition compared to other treatment groups.

Keywords : antiinflammation, water fraction of leave *Phaleria macrocarpa* (Shecfff.) Boerl., oedema

PENDAHULUAN

Inflamasi dapat dianggap sebagai rangkaian kejadian kompleks yang terjadi karena tubuh mengalami *injury*, baik yang disebabkan oleh bahan kimia atau mekanis atau proses *self destructive* (autoimun). Inflamasi merupakan respon protektif dimana tubuh berupaya untuk mengembalikan kondisi seperti sebelum terjadi *injury* (*preinjury*) atau untuk memperbaiki secara mandiri setelah terkena *injury*. Respon inflamasi adalah reaksi protektif dan restoratif dari tubuh yang sangat penting karena tubuh berupaya untuk mempertahankan homeostasis dibawah pengaruh lingkungan yang merugikan (Galber & Rosen, 2006). Obat antiinflamasi yang umumnya digunakan terbagi menjadi dua kelompok besar yaitu antiinflamasi golongan steroid dan antiinflamasi golongan nonsteroid. Namun, kedua golongan obat tersebut memiliki efek samping yang cukup serius pada penggunaannya. Antiinflamasi golongan steroid dapat menyebabkan tukak peptik, penurunan imunitas terhadap infeksi, osteoporosis, atropi otot dan jaringan lemak, meningkatkan tekanan intra okular, serta bersifat diabetik (Suherman K & Ascobat P, 2007).

Sementara itu antiinflamasi golongan nonsteroid dapat menyebabkan tukak lambung hingga pendarahan, gangguan ginjal, dan anemia (Dugowson EC & Gnanashanmugam P, 2006). Karena banyaknya efek samping dari obat-obatan antiinflamasi yang umum digunakan saat

ini, maka semakin banyak dikembangkan antiinflamasi yang berasal dari tanaman. Salah satu tanaman yang dipercaya memiliki efek antiinflamasi adalah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Sheeff.) Boerl.). Mahkota Dewa memiliki efek antiinflamasi yang kuat karena mengandung terpenoid, saponin, tanin, flavonoid dan fenol yaitu rutin and katekol (Hendra R *et al.*, 2011). Ekstrak semipolar buah *P. marcocarpa* yang mengandung 20,26% phalerin dilaporkan memiliki efek antiinflamasi dengan menekan ekspresi COX2-mRNA dengan adanya phorbol ester 12-O-tetradecanoilphorbol-13 asetat (Tjanrawinata RR *et al.*, 2010). Ekstrak daging buah pada bagian pericarp dan mesocarp memiliki efek antiinflamasi menengah sedangkan bagian biji dilaporkan tidak memiliki efek antiinflamasi (Hendra, *etal*). Berdasarkan aspek etnofarmakologi bahwa daging buah memiliki efek antiinflamasi, maka ada dugaan bahwa daun mahkota dewa juga memiliki efek antiinflamasi. Efek antiinflamasi dinilai menggunakan metode plestimometer, yaitu metoda induksi udem dengan karagenan pada telapak kaki tikus (Parmer & Prakash, 2006).

METODE

Kandang adaptasi berupa bak plastik dan penutup kandang dari anyaman kawat dengan botol minum tikus, alat gelas (Pyrex®), alat destilasi, *rotary evaporator*, kain flanel, corong pisah, cawan uap, plestimometer air raksa (Duran®), timbangan analitik, spuit injeksi, sonde oral, timbangan hewan,

stopwatch.

Daun mahkota dewa segar, metanol, heksan, kloroform, etil asetat, asam sulfat 2N, pereaksi Mayer, asam korida pekat, asam sulfat pekat, asam asetat anhidrat, logam Mg, karagenin 1%, NaCl fisiologis, Natrium diklofenak, CMC 0,5%, dan aquadest.

Sampel tumbuhan

Sampel tumbuhan sebanyak 3,4 kg yang diambil dari Balitro (Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat). Determinasi dilakukan di Herbarium Bogoriense Pustlitbang Biologi LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia), Cibinong.

Ekstraksi

Daun *P.macropcarpa* (Scheff.) sebanyak 6 kg yang diperoleh dari Balitro berupa daun yang berwarna hijau tua dan masih segar dan telah dideterminasi. Setelah melalui proses sortasi, pengeringan, penghalusan dan penyaringan, diperoleh 3,4 kg serbuk kering. Simplisia dikeringkan dengan menjemur di udara terbuka dan dengan menggunakan lemari pengering, kemudian dihaluskan menjadi serbuk. Serbuk kering dimasukkan ke dalam bejana maserasi kemudian ditambahkan pelarut metanol 80% sampai seluruh serbuk terendam selama 2 x 24 jam. Cairan penyari kemudian dipisahkan dari ampas dan disimpan dalam wadah penampungan. Selanjutnya ampas dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama dan dibiarkan kembali, proses remaserasi dilakukan berkali-kali hingga cairan penyari berwarna bening. Ekstrak cair

yang diperoleh dikumpulkan menjadi satu dan dipekatkan dengan menggunakan penguap putar pada suhu 60°C hingga diperoleh 395,73 g ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh dipartisi cair-cair menggunakan corong pisah. Sebanyak 275 g ekstrak kental dilarutkan dalam 500 mL air suling hangat, kemudian ditambahkan 1000 mL heksan lalu dikocok dalam corong pisah. Setelah pengocokan, didiamkan dan selanjutnya akan diperoleh dua lapisan yang tidak bercampur, lapisan air dipisahkan dari heksan. Kemudian pada fraksi air ditambahkan lagi 1000 mL heksan dan dikocok kembali. Proses ini diulang sebanyak 5 kali. Fraksi heksan yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan penguap putar pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Partisi pada fraksi air dilanjutkan secara bertingkat, berturut-turut dengan menambahkan 1000 mL kloroform, 1000 mL etil asetat dan 1000 mL *n*-butanol masing-masing sebanyak 5 kali pengulangan. Fraksi air merupakan larutan yang tidak tertarik ke pelarut heksan, kloroform, etil asetat dan metanol. Dari hasil fraksinasi bertingkat diperoleh 71,4 g fraksi air. Selanjutnya terhadap fraksi air dilakukan pemeriksaan kadar air dan penapisan fitokimia untuk melihat adanya kandungan kimia alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan gula pereduksi, serta kumarin (Depkes RI, 2000).

Pembuatan suspensi natrium diklofenak

Natrium diklofenak 100 mg disuspensikan dengan CMC 0,5%. CMC ditaburkan kedalam air panas 7 kalinya sampai larut dan homogen.

Kemudian ditambahkan Natrium diklofenak dalam campuran CMC hingga terdispersi merata dan sisa air panas ditambahkan hingga volume yang diinginkan.

Penentuan dosis

Dosis uji fraksi air daun mahkota dewa yaitu 0,5 g/kgBB, 1 g/kgBB dan 2 g/kgBB diberikan secara peroral. Dosis karagenin yang disuntikkan di telapak kaki tikus adalah 1% sebanyak 0,05 ml.

Uji efek antiinflamasi

Uji efek antiinflamasi dilakukan menggunakan metode plestimometer, yaitu metoda induksi udem dengan karagenin pada telapak kaki tikus (Parmar NS & Prakash S, 2006). Hewan uji yang digunakan tikus putih jantan galur *Sprague dawley*. Sebelum perlakuan, tikus dipuaskan selama 18 jam, namun air minum tetap diberikan. Hewan dibagi menjadi 5 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus putih dengan berat badan 150-200 gr. Pada awal penelitian, volume telapak kaki masing-masing hewan uji diukur terlebih dahulu dengan alat plestimometer sebagai volume dasar.

Setelah data awal diperoleh, masing-masing kelompok diberikan ekstrak uji atau pembanding. Kelompok 1 (kontrol negatif/ KKN) diberikan CMC 0,5% dengan dosis 1 ml/200 gBB; kelompok 2 (kontrol positif / KKP) diberi suspensi Natrium Diklofenak dengan dosis 200 mg/hari/gBB; kelompok 3 (KE1) diberi fraksi air daun mahkota dewa dengan dosis 0,5 g/kgBB, kelompok 4 (KE2)

diberi fraksi air daun mahkota dewa dengan dosis 1 g/kgBB, dan kelompok 5 (KE3) diberi fraksi air daun mahkota dewa dengan dosis 2 g/kgBB. Tiga puluh menit setelah pemberian obat uji atau larutan kontrol, masing-masing tikus disuntikkan larutan karagenin 1% pada telapak kaki kirinya sebanyak 0,05 ml. Penyuntikan karagenin dilakukan secara subplantar. Tiga puluh menit kemudian volume kaki yang disuntik karagenin diukur menggunakan alat plestimometer air raksa dengan cara mencelupkan telapak kaki kiri tikus ke dalam alat plestimometer sampai tanda batas dan dicatat. Pengukuran dilakukan tiap 30 menit selama 6 jam setelah penyuntikan karagenin. Volume radang adalah selisih volume telapak kaki tikus setelah dan sebelum disuntikkan karagenin. Pada waktu pengukuran, volume cairan harus sama setiap kali pengukuran, tanda batas pada kaki tikus harus jelas, kaki tikus harus tercelup sampai batas yang dibuat.

Perhitungan persen inhibisi radang

Rata-rata persentase inhibisi radang dihitung menggunakan rumus (Phytomedica, 1993).

$$(a - b)/a \times 100\% \quad (1)$$

a = Volume radang rata-rata kelompok kontrol

b = Volume radang rata-rata kelompok perlakuan bahan uji atau obat pembanding.

Analisa data

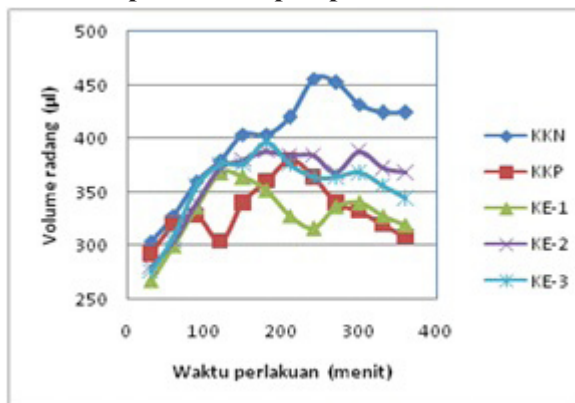
Data yang diperoleh dari penelitian ini diuji homogenitas variannya menggunakan uji *Levene Statistic*. Jika data terdistribusi normal

dan bervariasi homogen, maka dilakukan uji ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95%. Kemudian dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda *Bonferroni* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar pasangan kelompok perlakuan (Santoso, 2000).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan kadar air menunjukkan bahwa fraksi air daun mahkota dewa memiliki kadar air 7,53% dan hasil penapisan fitokimia menunjukkan adanya kandungan kimia flavonoid, saponin, dan tanin. Hasil pengamatan terhadap volume radang rata-rata pada kelompok fraksi air daun mahkota dewa dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1. Volume udem rata-rata vs waktu pada kelompok perlakuan



Kelompok fraksi air daun mahkota dewa pada dosis 0,5 g/kgBB (KE 1) menunjukkan peningkatan volume radang maksimum pada menit ke-120 dan volume radang menurun mulai pada menit ke-150. Pada dosis 1 g/kgBB (KE 2) pembentukan volume radang maksimum terjadi pada menit ke-180 dan volume radang menurun pada menit ke-210, 240, dan 270. Pada dosis 2 g/kgBB (KE 3)

pembentukan volume radang maksimum terjadi pada menit ke-180 dan volume udem menurun pada menit ke-210. Sedangkan pada kelompok Natrium diklofenak sebagai pembanding menghasilkan pembentukan volume radang maksimum pada menit ke-210.

Hasil perhitungan persentase penghambatan radang menunjukkan bahwa Natrium diklofenak sebagai kontrol positif memiliki persentase penghambatan udem sebesar 30,70%. Sedangkan pada fraksi air daun mahkota dewa dosis 0,5 g/kgBB memiliki persentase penghambatan udem 27,35%. Pada dosis 1 g/kgBB persentase penghambatan udem 18,58%. Pada dosis 2 g/kgBB persentase penghambatan udem 20,17%. Berdasarkan hasil persentase penghambatan udem tiap perlakuan menunjukkan bahwa fraksi air daun mahkota dewa dengan dosis 0,5 g/kgBB memiliki nilai persen penghambatan radang yang paling tinggi dibandingkan kelompok dosis uji lainnya. Hal tersebut sejalan dengan temuan pada beberapa jenis obat dalam dosis tinggi yang menyebabkan pelepasan histamin secara langsung dari sel mast sehingga mengakibatkan pembuluh darah menjadi lebih permeabel terhadap cairan plasma dan menimbulkan proses peradangan (Kurniawati, 2005). Demikian juga pada fraksi air daun mahkota dewa yang mengandung senyawa yang mampu mengakibatkan peradangan. Pengukuran volume telapak kaki tikus dengan pletismometer dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya sulitnya mengkondisikan hewan uji dan kejelasan pada saat pembacaan skala. Hal ini dapat dikurangi dengan menenangkan hewan uji

pada saat memasukan kakinya kedalam raksa, pemberian batas yang jelas dengan penanda spidol permanen yang tidak mudah hilang serta melakukan pengukuran secara triplo untuk setiap hewan uji. Hasil uji statistik menggunakan metode Anova menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara KKN dengan KKP, KE1, KE2 dan KE3. Hal ini menunjukkan bahwa KKP, KE 1, KE 2, dan KE 3 mempunyai efek antiinflamasi sehingga dapat mengurangi besarnya volume radang kaki tikus yang ditimbulkan oleh pemberian karagenin secara subplantar. Selama proses inflamasi, pada fase ultimat terjadi rangkaian kejadian dimulai dari kerja makrofag yang menginduksi ekspresi gen proinflamasi, yaitu nitrit oksida sintase (iNOS). Sekresi enzim ini diatur oleh sitokin proinflamasi dan menghasilkan produksi NO dari arginin. Pengaturan produksi NO karenanya penting sebagai target pada pengobatan penyakit inflamasi (Guzik T *et al.*, 2003). Kemampuan *P. marcocarpa* memiliki efek antiinflamasi berkaitan dengan adanya senyawa fenolik dan flavonoid yang terkandung di dalamnya (Hendra R *et al.*, 2011). Studi *in vitro* menunjukkan bahwa flavonoid mampu menghambat produksi nitrit oksida dan menghambat ekspresi iNOS, kekuatan antiinflamasi tergantung pada struktur atau subklas dari flavonoid (Gonzales GJ *et al.*, 2007). Flavonoid juga dapat menghambat akumulasi leukosit di daerah inflamasi (Shah BN *et al.*, 2011). Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa fraksi air daun mahkota dewa mengandung flavonoid. Beberapa studi lain menunjukkan bahwa

mahkota dewa memiliki efek antiinflamasi. Studi efek antiinflamasi terhadap isolat daun mahkota dewa, yaitu phalerin secara *in vitro* menunjukkan bahwa phalerin memiliki efek antiinflamasi ringan. Phalerin mampu menghambat enzim lipoksigenase dan xantin oksidase, namun tidak memiliki efek hambatan terhadap enzim hyaluronidase (Nor F *et al.*, 2012). Studi yang dilakukan oleh Tjandrawinata, *et al* 2010 terhadap ekstrak metanol buah mahkota dewa dengan kandungan 20,26% phalerin menunjukkan ekstrak memiliki efek antiinflamasi dengan menekan ekspresi COX2-mRNA dengan keberadaan phorbol ester 12-O-tetradecanoyl phorbol-13-acetate. Hambatan COX-2 mRNA menyebabkan penurunan sintesis prostaglandin E2 (PGE2) dan selanjutnya menghambat inflamasi. Enzim siklooksigenase (COX) berperan dalam mengkatalisis biosintesis prostaglandin dari asam arakhidonat. Isoform enzim siklooksigenase (COX), yaitu COX-1 dan COX-2. Enzim COX-1 terdapat dalam sebagian besar jaringan (konstitutif), sedangkan enzim COX-2 bersifat *inducible*, diinduksi oleh inflamasi karsinogenesis, sitokin dan tumor promotor (Shah BN *et al.*, 2011).

KESIMPULAN

Fraksi air daun mahkota dewa dengan dosis 0,5 g/kgBB, 1 g/kgBB dan 2 g/kgBB memiliki aktivitas antiinflamasi pada tikus yang diinduksi larutan karagenin 1%. Persentase penghambatan udem tertinggi dihasilkan oleh fraksi air daun mahkota dewa pada dosis 0,5 g/kg BB.

DAFTAR ACUAN

- Departemen Kesehatan RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
- Dugowson, E.C., & Gnanashanmugam, P. (2006). Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Physical Medicine and Rehabilitation*, 1, 347-3547.
- Galber, C.A., & Rosen A. (2006). Inflammation rheumatic disease. In *Pathophysiology of disease An introduction to clinical medicine* (Eds) Stephen J. McPhee and William F Ganong. McGraw-Hill Company, 5th ed, hal 676.
- González-Gallego, J., Sánchez-Campos, & S., Tunon, M. (2007). Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. *Nutrición Hospitalaria*, 22, 287-293.
- Guzik, T., Korbust, R., & Adamek-Guzik, T. (2003). Nitric oxide and superoxide in inflammation. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 54, 469-487.
- Hendra, R., Ahmad, S., Sukari, A., Shukor, M.Y., & Oskoueian, E. (2011). Flavonoid analyses and antimicrobial Activity of various parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl fruit. *International Journal Molecul Science*, 12, 3422-31.
- Hendra, R., Ahmad, S., Oskoueian, E., et al. (2011). Antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxicity of *Phaleria macrocarpa* (Boerl.) Scheff fruit. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11, 1-10.
- Kurniawati, A. (2005). Uji aktivitas anti anflamasi ekstrak metanol *Graptophyllum griff* pada Tikus Putih. *Majalah Kedokteran Gigi Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional IV*, 167-170.
- Nor-Fariza, J., Fadzureena, A., Zunoliza., A., Luqman Chuah, K.Y. Pin & I. Adawiah. (2012). Anti-inflammatory activity of the major compound from methanol extract of *Phaleria macrocarpa* Leaves. *Journal of Applied Sciences*, 12, 1195-1198.
- Parmar, N.S., & Prakash Shiv. (2006). Evaluation of Analgesics, Anti-inflammatory and antypiretic activity. *In Screening Methods in Pharmacology*. Alpha Science International, LTD, Oxford UK, 211 – 250.
- Phytomedica. (1993). Penapisan farmakologi, pengujian fitokimia dan pengujian klinik. Jakarta, 43-45.
- Santoso, S. (2004). *Menguasai Statistik di Era Informasi*. Gramedia, Jakarta, 213-223.
- Shah, B.N., Seth, K., & Mheswari, K.M. (2011). A review on medical plants as source of anti-inflammatory agents. *Journal Research of Medicinal Plants*, 5(2), 101-11
- Suherman, K.S., & Ascobat, P. (2007). Adrenokortikotropin, adrenokortikosteroid, analog-sintetik dan antagonisnya. Dalam: Ganiswara. S, Nafrialdi, Setabudi. R (Ed.), *Farmakologi dan Terapi*. (5th ed), 513. Gaya Baru Jakarta
- Tjandrawinata, R.R., Arifin, P.F.,

Tandrasasmita, O.M., Rahmi, D., & Aripin, A. (2010). DLBS1425, a *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. extract confers anti proliferative and

proapoptosis effects via eicosanoid pathway. *Journal Experiment Theraphy Oncology*, 8, 187–201.