

Aktivitas Anti-Inflamasi *Eupatorium inulifolium* dan Kalsium Karbonat Pada Tikus Jantan

Dwi Rizki Febrianti^{1*}, Siska Musiam²

¹Laboratorium Biologi Farmasi Akademi Farmasi ISFI Banjarmasin, Indonesia

²Laboratorium Kimia, Akademi Farmasi ISFI Banjarmasin, Indonesia

*Email: dwirizki@akfar-isfibjm.ac.id

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari potensi daun Kumpai Mahung (*Eupatorium inulifolium*) dan kalsium karbonat sebagai anti-inflamasi, berdasarkan obat tradisional di pegunungan Dayak Meratus Indonesia. Metode yang digunakan untuk mendapatkan ekstrak adalah maserasi menggunakan pelarut metanol dengan rasio 1:10. Uji kualitatif Penapisan fitokimia fenolik dengan senyawa FeCl₃ dan kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis dengan kuersetin sebagai standar, panjang gelombang 418 nm konsentrasi 10-50 ppm. Ekstrak *Eupatorium inulifolium* dan calcium karbonat diformulasikan menjadi salep sederhana dengan penambahan vaselin album (1:3). tes anti-inflamasi menggunakan tikus jantan yang telah diinduksi oleh karagenin 3%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada pengujian kualitatif dan kuantitatif, adalah positif senyawa fenolik, Mengandung 3,68% flavonoid. Ekstrak *Eupatorium inulifolium* dan kalsium karbonat dalam salep dapat secara signifikan mengurangi edema pada kaki tikus dibandingkan dengan kontrol negatif (14,1%).

Kata kunci: Edema, Salep, Anti Inflamasi

ABSTRACT

*The purpose of this research was to study the potential Kumpai Mahung leaf (*Eupatorium inulifolium*) and calcium carbonate as an anti-inflammation, based on folk medicine in Dayak meratus mountains of Indonesia. The methods used to obtain the extract is maceration using methanol solvent with the ratio of 1:10. Qualitative test Phytochemical Screening of phenolic with FeCl₃ and quantitative flavonoids compounds with spectrophotometry UV-vis with quercetin as standard, wavelength 418 nm concentration 10-50 ppm. *Eupatorium inulifolium* extracts and calcium carbonate are formulated into simple ointments with the addition of vaseline album (1: 3) anti-inflammation test using male mice that had been inducted by carrageenan 3%. The result showed that on qualitative and qualitative testing, is positive phenolic compounds, contains 3,68% of flavonoids. *Eupatorium inulifolium* extract and calcium carbonate in the ointment can significantly alleviate the edema on mice's paw compared to a negative control (14,1%).*

Keywords: Rat Paw Edema, Ointment, Anti-Inflammation

I. PENDAHULUAN

Peradangan adalah salah satu tema yang paling menarik untuk dipelajari karena mencakup banyak mediator, dan ini menyebabkan banyak agen peradangan seperti antibodi monoklonal dan antagonis peradangan mulai dikembangkan dan dilaporkan ada obat lain seperti asam askorbat monosiklik, garam kalsium dan kalsium karbonat juga memiliki aspek anti-inflamasi terutama yang disebabkan sengatan serangga (Karnad, Patil dan Majagi, 2006). Peradangan memiliki beberapa respons berdasarkan penyebabnya; salah satu respons peradangan yang biasa terjadi adalah edema. Edema terjadi karena meningkatnya aliran darah lokal ke area luka, dan itu menyebabkan lebih banyak mediator kimia dan histamin dilepaskan sehingga permeabilitas kapiler meningkat (Sousa, Vieira dan Pinho, 2010). Efek dari pembengkakan ini termasuk ketidaknyamanan, rasa sakit, dan ruam (Isrofah, Sagiran, dan Afandi, 2011). Obat antiinflamasi sebagian besar bekerja dengan menurunkan permeabilitas kapiler dengan menurunkan jumlah histamin yang dilepaskan oleh basofil, menghambat fungsi fagositosis leukosit dan makrofag sehingga pembengkakan dapat mereda.

Penggunaan sumber daya alam di Kalimantan Indonesia, belum dilakukan secara maksimal karena keanekaragaman

yang tinggi. Penggunaan ramuan alami dalam pengobatan meningkat terutama di kota-kota, tetapi kondisinya sebaliknya dengan kenyataan; sumber utama obat tradisional yang umumnya terletak di desa dan atau di dekat hutan (Norcahyati, 2012). Pengakuan atas potensi sumber alam dan tanaman telah diakui sejak dahulu kala, dan efeknya juga telah diketahui sebagian.

Daun Kumpai Mahung Mahung (*Eupatorium inulifolium* H.B & K.) Tumbuh di wilayah Dayak Meratus dan Dayak Amandit, Kalimantan Selatan. Umumnya, daun Kumpai Mahung digunakan sebagai obat tradisional untuk demam berdarah dan sakit perut. CaCO_3 / Kalsium Karbonat yang biasa digunakan dalam produksi makanan; Proses perendaman dalam larutan kalsium karbonat dapat memberikan tekstur, meminimalkan rasa yang tidak diinginkan seperti rasa hambar dalam memproduksi keripik (Siregar dan Setyohadi, 2015). Studi lain menunjukkan bahwa kalsium karbonat dapat menurunkan agregasi trombosit pada sel endotel (Karnad, Patil dan Majagi, 2006). Penelitian ini bertujuan untuk memaksimalkan potensi tanaman alami dan meningkatkan penggunaan kalsium karbonat di antara masyarakat sehingga jika aspek-aspek tersebut digabungkan, kami berharap bahwa hasilnya akan memiliki potensi besar

sebagai salah satu alternatif pilihan yang mungkin yang ada, lebih baik daripada obat sintetis lainnya.

II. METODE

A. Peralatan dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman Kumpai Mahung (*Eupatorium inulifolium* H.B. & K), metanol pa (Merck), Vaseline (pudak), Kalsium Karbonat (Merck), κ -Carrageenan (Merck), hidrokortison salep®.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jangka sorong dengan akurasi 0,05 mm (Krisbow), Alat Perlindungan Pribadi, kandang Tikus, terumo syringe® 1 mL, skala analitik (Ohaus Pioneer® Plus Analytica PA124), penangas air (Mommert WNB 10), rotary set peralatan maserasi evaporator (heidolph), thermogenesis 10s UV-Vis.

B. Persiapan Sampel

Kumpai Mahung (*Eupatorium inulifolium* H.B. & K) yang berlokasi di Kawasan Hutan Dengan Tujuan Khusus (KHDTK) di Samboja, Kalimantan Timur dan diidentifikasi oleh Balai Penelitian Teknologi Konservasi Sumber Daya Alam, Samboja, Kalimantan Timur.

1. Proses ekstraksi

Sekitar 1 kg serbuk daun Kumpai Mahung diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut

metanol 10L dengan perbandingan 1:10. Ekstraksi dilakukan dalam 3x24 jam dengan 6 jam pengadukan selama 10 menit, dan maserasi ulang dilakukan dua kali. Ekstrak disaring menggunakan Buchner filter sampai filtrat diperoleh, kemudian filtrat dimasukkan ke dalam rotary evaporator pada 60°C sehingga ekstrak cair dapat diuapkan dalam waterbath di 60°C sampai massa konstan diperoleh

2. Analisis kualitatif

Pengujian fenolik dilakukan dengan menambahkan 1 mL ekstrak yang direaksikan dengan 0,5 mL larutan FeCl₃ 1% (Febrianti, 2018)

3. Analisis kuantitatif

Uji flavonoid dalam ekstrak menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis, dengan kuersetin sebagai standar, panjang gelombang 418nm konsentrasi 10-50 ppm.

4. Persiapan salep

Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tiga kelompok salep sederhana, hasil ekstraksi ditambahkan dalam basis salep seperti Vaseline dengan rasio 1: 3 (75mg : 225mg). Formula I adalah kontrol

negatif, formula II adalah salep ekstrak, formula III adalah salep Kalsium karbonat.

5. Persiapan Hewan

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 15 tikus Sprague-Dawley (@ 5 tikus masing-masing kelompok). Hewan-hewan itu diadaptasi 12: 12h siang-malam dan diberi makanan dan minuman secara ad libitum.

6. Pengujian Antiinflamasi

Kaki tikus dibersihkan dengan larutan fisiologis NaCl 0,9%. Tikus diberi injeksi sub-plantar karagenan 3% 0,05 ml. Setelah satu jam, volume pembengkakan diukur sebagai V_0 (volume 0), kemudian perawatan dengan salep pengujian (Formula I dengan grup 1, formula II dengan grup 2 dan formula III dengan grup 3) diberikan satu jam setelahnya. Penurunan volume kemudian dihitung pada 0,1,2,3 dan 4 jam setelahnya dengan akurasi kaliper 0,05 mm.

7. Analisis data

Profil hubungan antara rata-rata ketebalan edema dari kontrol negatif, salep kalsium karbonat dan salep ekstrak. Menurut perhitungan AUC (Area Under Curve), maka persentase

efek antiinflamasi dihitung dengan rumus ini.

$$AUC_{t_{n-1}}^{t_n} = \frac{C_{t_{n-1}} + C_{t_n}}{2} (t_n - t_{n-1})$$

Catatan: C_{tn-1} : ketebalan rata-rata untuk edema pada kedua kalinya, C_{tn} : ketebalan rata-rata untuk edema pada kali pertama.

Persentase penghambatan ketebalan edema dihitung berdasarkan persentase penurunan edema menggunakan rumus di bawah ini (Erawati et al., 2011):

$$\%DAI = \frac{AUC_k - AUC_p}{AUC_k} \times 100\%$$

Catatan: AUC_k = Kurva AUC untuk ketebalan edema rata-rata dengan waktu kontrol negatif, AUC_p = AUC kurva untuk ketebalan edema rata-rata untuk kelompok perlakuan untuk setiap individu.

Data dari percobaan kemudian dianalisis menggunakan SPSS dengan uji normalitas dan homogenitas, dilanjutkan dengan pengujian ANOVA sesudahnya

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

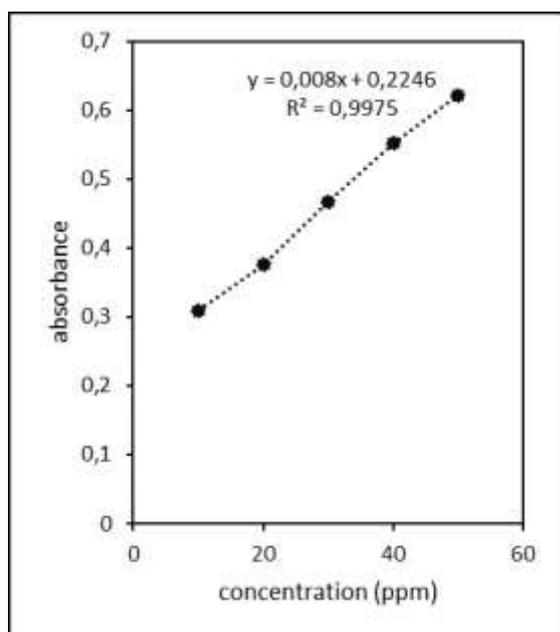
A. Analisis kualitatif

Tes fenolik adalah ketika warna kehitaman-kehitaman pada ekstrak setelah penambahan $FeCl_3$ 1% karena reaksi itu sendiri membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} .

B. Analisis kuantitatif

Kuersetin berfungsi sebagai pembanding kadar flavonoid dalam

ekstrak. Dengan konsentrasi 10-50 ppm, hasil kurva standar $y = 0,008022x + 0,22464$ dengan nilai-R 0,99874. (gbr.1) Kemudian, dengan menghitung kadar flavonoid dalam triplo, diperoleh kadar 3,68%.

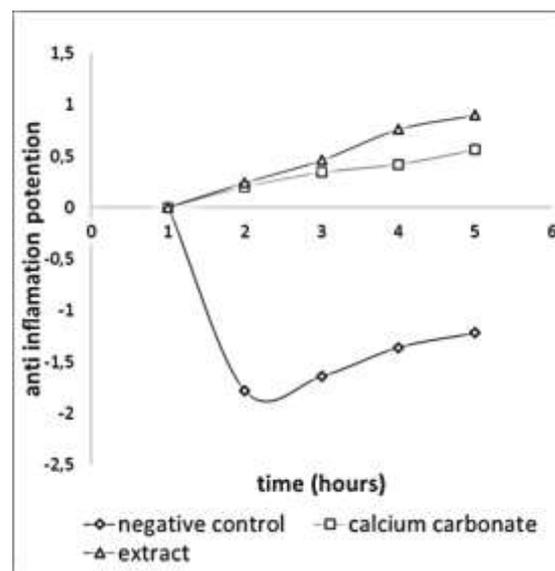


Gambar 1. Kurva baku kuersetin (pembanding)

C. Tes anti-inflamasi

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antiinflamasi ekstrak salep sederhana dan ekstrak kalsium karbonat pada tikus jantan. Hasil penelitian menunjukkan dari nilai AUC (penurunan ketebalan edema) ekstrak salep (AUC = 0,9) dan salep kalsium karbonat (AUC = 0,56) memiliki efek anti-inflamasi yang lebih baik daripada kontrol negatif (AUC = -1,22). setelah nilai AUC dilanjutkan perhitungan persentase efek antiinflamasi, dapat dilihat bahwa ekstrak

salep (13,79%) lebih baik daripada salep kalsium karbonat (14,17%) (Gbr.2). Pengujian statistik uji-T dengan $p = 95\%$ ($\alpha = 0,05$), dapat diketahui bahwa persentase penurunan edema berbeda nyata. Dari hasil itu dapat dilihat aktivitas penghambatan yang lebih baik.



Gambar 2. Grafik potensi anti-intlamasi semua perlakuan

Penelitian ini menggunakan bahan salep karena dapat bertindak sebagai perlindungan untuk iritasi kimia dan mekanik permukaan kulit, stabil dalam penggunaan, didistribusikan dengan merata dan mudah, dan dalam kasus peradangan akut; itu bisa menenangkan, bertindak sebagai vasokonstriktor. Penggunaan salep berminyak seperti Vaseline ditentukan karena alasan seperti itu tidak mengandung air, hidrofobik dan non-air larut, yang berarti tidak mudah larut, sehingga waktu kontak dengan kulit lebih lama, mengarah untuk efek terapi

yang lebih lama (Isrofah, Sagiran, dan Afandi, 2011).

Karaginan menyebabkan edema tungkai yang menyebabkan pelepasan mediator seperti histamin, serotonin, bradikinin, trombosit, faktor pengaktif dan prostaglandin (de Sousa et al., 2010; Ahmad et al., 2013) menunjukkan bahwa senyawa fenolik dapat meringankan jumlah pro sitokin -inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , IL-6 dan MCP-1 pada model tikus yang diinduksi oleh karaginan. Sitokin proinflamasi ini mengaktifkan neutrofil, monosit, sel-T, dan merangsang kemotaksis, pertumbuhan, dan diferensiasi sel-sel inflamasi. Selain itu, mereka juga menginduksi ekspresi molekul adhesi dan mengelola gen inflamasi dan produksi nitrit oksida (Commins, Borish dan Steinke, 2010). Mekanisme anti-inflamasi kalsium karbonat adalah untuk mengurangi siklus monosit, blokade makrofag, dan mengurangi agregasi platelet pada sel endotel sehingga proses inflamasi dapat dikurangi (Karnad, Patil dan Majagi, 2006). Kalsium karbonat juga dapat meminimalkan biomarker serum pro-inflamasi (IL-6) dan TNF- α (Mustafar et al., 2014). Mekanisme kerja kalsium anti-inflamasi tidak dapat dijelaskan berdasarkan temuan ini, namun di sisi lain ada beberapa mekanisme yang telah diusulkan sebelumnya. Karnad et al. (2006) berspekulasi bahwa kalsium

dobesilat dapat meminimalkan jumlah aliran monosit, menghambat aksi makrofag untuk meningkatkan peradangan, dan juga menunjukkan bahwa hal itu dapat mendorong produksi faktor agregasi trombosit di dalam sel endotel, sehingga penumpukan cairan (edema) dapat dikurangi, dan ini juga berlaku untuk kalsium karbonat. Faktanya, telah dilaporkan bahwa kalsium dapat memberikan efek vasodilatasi yang lebih baik dengan menstabilkan sel-sel membran dalam endotel dan menyebabkan penurunan efusi, sehingga edema dapat dikurangi dan diratakan (Karnad, Patil dan Majagi, 2006).

IV. KESIMPULAN

Dalam penelitian ini, dapat ditunjukkan bahwa pengobatan topikal dapat secara signifikan menghambat edema pada kaki tikus, dan ini dapat menunjukkan bahwa ekstrak salep dan kalsium karbonat memiliki aktivitas anti-inflamasi

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian Ini Didukung Oleh KEMENRISTEKDIKTI, Penelitian Dosen Pemula Hibah Dan Perbaikan Artikel Melalui Lokakarya Klinik Penulisan Jurnal Internasional Di Makassar Oleh Direktorat Manajemen Kekayaan Intelektual, KEMERISTEKDIKTI Indonesia

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, S. F. *et al.* (2013) 'Grape Seed Proanthocyanidin Extract Protects Against Carrageenan-Induced Lung Inflammation in Mice Through Reduction of Pro-inflammatory Markers and Chemokine Expressions.' doi: 10.1007/s10753-013-9764-2.
- Commings, S. P., Borish, L. and Steinke, J. W. (2010) 'Immunologic messenger molecules: Cytokines, interferons, and chemokines', *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. Elsevier Ltd, 125(2), pp. S53–S72. doi: 10.1016/j.jaci.2009.07.008.
- Febrianti Dwi Rizki (2018) 'Analisis Kandungan Flavonoid Dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Pada Mencit Jantan Secara In Vivo', *jurnal ilmiah ibnu sina*, 3(oktober 2018), pp. 304–311.
- Isrofah, Sagiran and Afandi, M. (2011) 'Efektifitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) Terhadap Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat 2 Termal pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus*)', *Muhammadiyah Journal of Nursing*, pp. 99–108.
- Karnad, A. S., Patil, P. A. and Majagi, S. I. (2006) 'Calcium enhances the antiinflammatory activity of aspirin in albino rats', *Indian Journal Pharmacol*, 38(6), pp. 397–402.
- Mariana (2015) *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Dan Daun Waru (*Hibiscus Tiliaceus* L.) Dengan Metode Dpph (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)*.
- Minhatun Nafisah, Tukiran, Suyatno, dan N. H. (2014) 'Phytochemical Screening Test On hexan, Chloroform and Methanol Extracts of Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*)', pp. 279–286.
- Mustafar, R. B. *et al.* (2014) 'Clinical immunology The effects of calcitriol with calcium carbonate supplementation on inflammatory biomarkers in chronic kidney disease patients' with low vitamin D', *Central European Journal of Immunology*, 2(2), pp. 236–242. doi: 10.5114/ceji.2014.43729.
- Norcahyati (2012) *Buku Tumbuhan Berkhasiat Obat Etnis Asli Kalimantan*.
- Siregar, N. E. and Setyohadi, M. N. (2015) 'Effect Of The Lime Concentration And Soaking Time On The Quality Of Durian Stone Chips', *Jurnal Rekayasa Dan Pertanian*, 3(2), pp. 193–197.
- Sousa, O. V. *et al.* (2010) 'Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of the Ethanol Extract of *Annona muricata* L. Leaves in Animal Models', *International Journal of Molecular Sciences*, 11(5), pp. 2067–2078. doi: 10.3390/ijms11052067.
- Sousa, O. V. De, Vieira, G. D. and Pinho, J. D. J. R. G. De (2010) 'Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of the Ethanol Extract of *Annona muricata* L. Leaves in Animal Models', *International Journal of Molecular Sciences*, 200, pp. 2067–2078. doi: 10.3390/ijms11052067.
- Widji Soeratri, Tristiana Erawati, Diny Rahmatika, N. R. (2014) 'Penentuan Dosis Asam p-metoksisinamat (APMS) Sebagai Antiinflamasi Topikal dan Studi Penetrasi APMS Melalui Kulit Tikus dengan dan Tanpa Stratum Korneum', *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 1(1), pp. 28–30.