

Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Srikaya (*Annonasquamosa L*) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus Musculus*) Yang Diinduksi Karagenin

Anti-Inflammatory Activities Of Srikaya Leaf Ethanol Extracts (*Annona Squamosa L*) In Mice (*Mus Musculus*) Induced Carragenin

Rizky Kausariyah Putri¹, Sri Rejeki²

^{1,2}Politeknik Kesehatan Bhakti Mulia

kausariyahputri05@gmail.com, rejekisri1005@yahoo.co.id

Abstract: *Srikaya* is one of the plants used as an anti-inflammatory or inflammatory drug. *Srikaya* leaf contains compounds such as flavonoids, steroid or terpenoids, and alkaloids. The study aims to determine the anti-inflammatory activity of *Srikaya* ethanol extract in mice induced carragenine. The manufacture of *Srikaya* ethanol extract uses Soxhletasi method, with ethanol solvent 96%. Mice grouped 5 groups, group I as a negative control given palm oil 25 ml/KgBB, group II as a positive control given sodium diclofenac 6.5 mg/KgBB, group III, IV and V as a treatment group given *Srikaya* leaf extract 300, 200 and 100 mg/kgBB. A dose of *Srikaya* ethanol extract 300, 200, 100 mg/kgBB has a consecutive anti-inflammatory activity (68.19 ± 1.50), (35.22 ± 2.54) and (19.40 ± 3.58)%. The results of the LSD test with Post Hoc Test showed that there was no significant difference between the dose of sodium diclofenac with a *srikaya* leaf ethanol extract 300 mg/kgBB. So, *Srikaya* leaf ethanol extract is potentially as an anti-inflammatory.

Keywords: anti-inflammatory activity, leaf *Srikaya*, Udem, Carragenin, Soxhletasi

Abstrak: *Srikaya* merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat antiinflamasi atau peradangan. Daun *srikaya* mengandung senyawa antara lain flavonoid, steroid atau terpenoid, dan alkaloid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun *srikaya* pada mencit yang diinduksi karagenin. Pembuatan ekstrak etanol daun *srikaya* menggunakan metode soxhletasi, dengan pelarut etanol 96%. Mencit dikelompokkan 5 kelompok, kelompok I sebagai kontrol negatif diberi minyak sawit 25 ml/KgBB, kelompok II sebagai kontrol positif diberi natrium diklofenak 6,5 mg/KgBB, kelompok III, IV dan V sebagai kelompok perlakuan diberi ekstrak daun *srikaya* 300, 200 dan 100 mg/kgBB. Ekstrak etanol daun *srikaya* dosis 300, 200, 100 mg/kgBB memiliki aktivitas antiinflamasi berturut turut ($68,19 \pm 1,50$), ($35,22 \pm 2,54$) dan ($19,40 \pm 3,58$)%. Hasil uji LSD dengan Post Hoc Test menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara dosis pemberian natrium diklofenak dengan ekstrak etanol daun *srikaya* 300 mg/kgBB. Jadi ekstrak etanol daun *srikaya* berpotensi sebagai antiinflamasi.

Kata kunci : aktivitas antiinflamasi, daun *srikaya*, udem, karagenin, soxhletasi

I. PENDAHULUAN

Gerakan “kembali ke alam” timbul sebagai dampak dari maraknya isu lingkungan yang merupakan reaksi semakin besarnya dampak negatif dari produk kimiawi dan pemanfaatan sumber daya alam yang tidak berdaya guna dan tidak berhasil guna (Supriadi, 2001). Obat-obatan tradisional, selain menggunakan ramuan dari tumbuh-tumbuhan tertentu yang mudah didapat di sekitar pekarangan sendiri, tidak mengandung risiko yang membahayakan bagi pasien serta mudah dibuat oleh siapa saja dalam keadaan mendesak sekalipun (Thomas, 1992).

Inflamasi merupakan respons protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan jaringan, yang berfungsi menghancurkan, mengurangi atau mengurung (sekuestari) baik agen pencedera maupun jaringan yang cedera. Penyebab inflamasi antara lain mikroorganisme, trauma mekanis, zat-zat kimia dan pengaruh fisika. Tujuan akhir respon inflamasi adalah menarik protein

plasma dan fagosit ke tempat yang mengalami cedera atau terinfeksi agar dapat mengisolasi, menghancurkan atau menginaktifkan agen yang masuk, membersihkan debris dan mempersiapkan jaringan untuk proses penyembuhan (Corwin, 2008). Salah satu tanaman tradisional yang memiliki khasiat sebagai antiinflamasi adalah daun *srikaya*.

Daun *srikaya* mengandung beberapa senyawa aktif. Hasil penelitian (Kusmardiyani., *et al*, 2012) menginformasikan bahwa hasil skrining fitokimia daun *srikaya* mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan steroid/triterpenoid. Berdasarkan penelitian tersebut menunjukkan bahwa flavonoid terdapat di dalam daun *srikaya*. Berdasarkan penelitian (Pramitaningastuti. *et al*, 2017) bahwa ekstrak etanol daun *srikaya* memiliki efektivitas daya antiinflamasi.

Ekstrak adalah sediaan sari pekat tumbuh-tumbuhan atau hewan yang diperoleh dengan cara melepaskan zat aktif dari masing-masing bahan obat menggunakan pelarut yang cocok

kemudian diuapkan semua atau hampir semua pelarutnya (Ansel, 1989). Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flonoid dan terpenoid. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung dimplisa akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Dirjen POM, 2000).

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan masa komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Sudjadi, 1986). Prinsip sokhletasi adalah penyarian secara terus menerus sehingga penyarian lebih sempurna dengan memakai pelarut yang relatif lebih sedikit. Penyarian telah selesai maka pelarut diuapkan dan sisanya adalah zat yang tersari. Biasanya pelarut yang digunakan adalah pelarut yang mudah menguap atau mempunyai titik didih yang rendah (Dirjen POM, 1979).

Inflamasi merupakan suatu respon protektif normal terhadap luka jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia yang merusak, atau zat-zat mikrobiologik. Inflamasi bisa dianggap sebagai rangkaian kejadian kompleks yang terjadi karena tubuh mengalami injury, baik yang disebabkan oleh bahan kimia atau mekanis atau proses *self-destructive* (autoimun). Ada kecenderungan pada pengobatan klinis untuk memperhatikan respon inflamatory dalam hal reaksi yang dapat membahayakan tubuh, dari sudut pandang yang lebih berimbang sebenarnya inflamasi adalah penting sebagai sebuah respon protektif dimana tubuh berupaya untuk mengembalikan kondisi seperti sebelum terjadi

II. METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, LAB, ekstraktor timbel, pendingin balik, selang, neraca elektrik, waterbath, batang pengaduk, cawan, beker glass, gelas ukur, kain flanel, sudip, kertas saring, jarum oral mencit, spuid, dan kandang mencit.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun srikaya segar (yang diambil di Desa Tangkisan, Tawang Sari, Sukoharjo), etanol 96%, karagenin 1%, NaCl 0,9%,

injury (preinjury) atau untuk memperbaiki secara mandiri setelah terkena injury. Respon inflamatory adalah reaksi protektif dan restoratif dari tubuh yang sangat penting karena tubuh berupaya untuk mempertahankan homeostasis dibawah pengaruh lingkungan yang merugikan (Lutfianto, I., 2009).

Gejala-gejala terjadinya respons peradangan yaitu kemerahan (*rubor*), Panas (*kalor*), Rasa sakit (*dolor*), Pembengkakan (*tumor*) dan Perubahan fungsi (*functio laesa*). Kemerahan biasanya merupakan hal pertama yang terlihat di daerah yang mengalami peradangan, panas terjadi bersamaan dengan kemerahan dari reaksi peradangan. Panas merupakan sifar reaksi peradangan yang hanya terjadi pada permukaan tubuh yakni kulit. Daerah peradangan pada kulit menjadi lebih panas dari sekelilingnya, sebab darah dengan suhu 37°C yang disalurkan tubuh ke permukaan daerah yang terkena radang lebih banyak disalurkan daripada ke daerah normal.

Gangguan fungsi merupakan konsekuensi dari suatu proses radang. Gerakan yang terjadi pada daerah radang, baik yang dilakukan secara sadar ataupun secara reflek akan mengalami hambatan oleh rasa sakit, pembengkakan yang hebat secara fisik mengakibatkan berkurangnya gerak jaringan (Lumbanraja, L.B., 2009).

Diklofenak adalah salah satu obat antiinflamasi non-steroid (OAINS) yang digunakan rasa sakit tingkat ringan tingkat ringan hingga menengah dan inflamasi. Diklofenak berfungsi menghambat produksi prostagladin, dengan menghalangi prostagladin, akan mengurangi rasa sakit dan inflamasi. Diklofenak memiliki dua jenis, yaitu natrium diklofenak dan kalium diklofenak. Natrium diklofenak adalah suatu senyawa anti-inflamasi non-steroid yang bekerja sebagai analgesik dan antiinflamasi (Mutschler, 1991).

minyak sawit, aquadest dan natrium diklofenak p.a.

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan, berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram.

Pembuatan Serbuk

Daun srikaya (*Annona squamosa L*) dicuci dengan air dan disortir dari pengotor, dikeringkan dalam lemari pengering pada suhu 40°C selama 24 jam. Simplisia yang telah

kering diserbuk menggunakan mesin penyerbuk.

Pembuatan Sokhletasi

Ekstraksi daun srikaya menggunakan metode sokhletasi dengan pelarut etanol 96%. Simplisia serbuk daun srikaya ditimbang 60 g dan dilarutkan dengan penyari etanol 96% 300 ml, dilakukan ekstraksi dengan metode sokhletasi. Hasil filtrat daun srikaya (*Annona squamosa L*) diuapkan di waterbath sampai diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan Larutan Karagenin 1%

Larutan karagenin digunakan untuk induksi inflamasi. Pembuatan larutan karagenin 1% adalah 0,1 gram karagenin dilarutkan dengan larutan NaCl 0,9% 10ml, dimasukkan dalam labu takar 10 ml.

Uji Antiinflamasi

Mencit yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 25 ekor yang terbagi menjadi 5 kelompok uji. Masing-masing uji kelompok terdiri dari 5 ekor mencit

Mencit putih jantan yang masing-masing telah ditimbang dan dikelompokkan, dipuaskan makan. Pengukuran panjang udem awal dilakukan sebelum mencit diberi perlakuan yang diberi induksi karagenin melalui itraplantar (P_0). Setelah itu mencit diberi perlakuan per oral. Kelompok I merupakan kontrol negatif diberikan minyak sawit 25 ml/kgBB, kelompok (II) kontrol positif diberikan Natrium Diklofenak 6,5 mg/kgBB, kelompok (III) ekstrak etanol daun srikaya 300 mg/kgBB, kelompok (IV) ekstrak etanol daun srikaya 200 mg/kgBB dan kelompok (V) ekstrak etanol daun srikaya 100 mg/kgBB. 5 menit setelah perlakuan masing-masing kelompok, diinduksi karagenin 1%. Pengamatan dilakukan selama 6 jam tiap 30 menit diukur panjang udem telapak kaki mencit.

$$\text{Panjang Udem} = P_t - P_0$$

Keterangan :

P_0 = Panjang udem sebelum diberikan karagenin

P_t = Panjang udem pada waktu tertentu

Data panjang udem tersebut kemudian dicari nilai AUC (*Area Under The Curve*) yaitu luas daerah dibawah kurva antara panjang udem terhadap waktu pengamatan. AUC dihitung dari panjang udem jam ke-0 sampai 6 jam. Perhitungan nilai AUC dengan rumus :

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

Keterangan :

$P_{t_{n-1}}$ = Panjang udem t_{n-1}

P_{t_n} = Panjang udem t_n

Persen daya antiinflamasi dihitung dengan rumus :

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

Keterangan :

$\%DAI$ = Persen daya antiinflamasi

AUC_k = AUC kurva panjang udem terhadap waktu untuk kontrol negatif

AUC_p = AUC kurva panjang udem terhadap waktu untuk kelompok perlakuan pada tiap individu.

Analisis

Hasil penelitian akan dianalisis apakah data memiliki distribusi normal ($p > 0,05$) atau tidak secara statistik dengan uji normalitas Kolmogorov-Sminov. Jika varians data berdistribusi normal, dilanjutkan dengan metode uji parametrik One Way ANOVA dan menilai perbandingan pengukuran dengan uji Post Hoc Test menggunakan SPSS 25.0 for windows dengan taraf kepercayaan 95%, $\alpha = 0,05$ dengan hipotesa data dimana H_0 tidak ada perbedaan yang signifikan antar perlakuan dan H_1 ada perbedaan yang signifikan antar perlakuan.

III. HASIL

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antiinflamasi dan dosis efektif dari ekstrak etanol daun srikaya. Daun srikaya yang diperoleh dikeringkan dan disokhletasi dengan pelarut etanol 96%. Hasil sokhletasi :

a. Organoleptis

Tabel 1. Hasil Organoleptis Ekstrak Etanol Daun Srikaya

Organoleptis	Hasil
Bentuk	Ekstrak Kental Hitam
Warna	Kehijauan
Bau	Aromatik
Rasa	Pahit

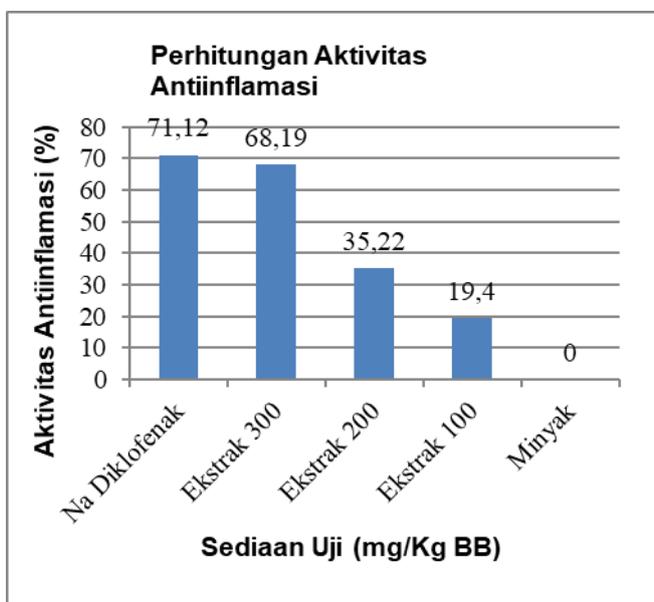
b. Hasil rendemen

Hasil sokhletasi serbuk daun srikaya sebanyak 60 g dengan etanol 96% sebanyak 300 ml diperoleh rendemen sebesar 8,30 % b/b.

Hasil Uji Aktivitas Antiinflamasi

Tabel 2. Rerata AUC dan % Aktivitas Antiinflamasi antar Sediaan Uji

No.	Sediaan Uji	AUC (Mean \pm SEM)	DAI (Mean \pm SEM) %
1.	Minyak Sawit	11,49 \pm 0,469	0
2.	Natrium Diklofenak	3,30 \pm 0,21	71,12 \pm 1,99
3.	EEDS 300 mg/Kg BB mencit	3,66 \pm 0,17	68,19 \pm 1,50
4.	EEDS 200 mg/Kg BB mencit	7,4 \pm 0,12	35,22 \pm 2,54
5.	EEDS 100 mg/Kg BB mencit	9,19 \pm 0,09	19,40 \pm 3,58

**IV. PEMBAHASAN**

Daun srikaya yang diambil yaitu masih berwarna hijau, utuh dan segar. Memetik daun segar dicuci dan dikeringkan agar kandungan air tidak mempengaruhi metabolisme dan tidak ditumbuhi kapang. Pengeringan dilakukan dalam lemari pengeringan pada suhu 50 °C menjadi simplisia kering agar zat aktif yang terkandung di dalam daun tidak rusak. Daun srikaya dibuat serbuk dengan menggunakan blender agar pada saat proses penyarian zat aktif yang terkandung bisa tersari secara maksimal.

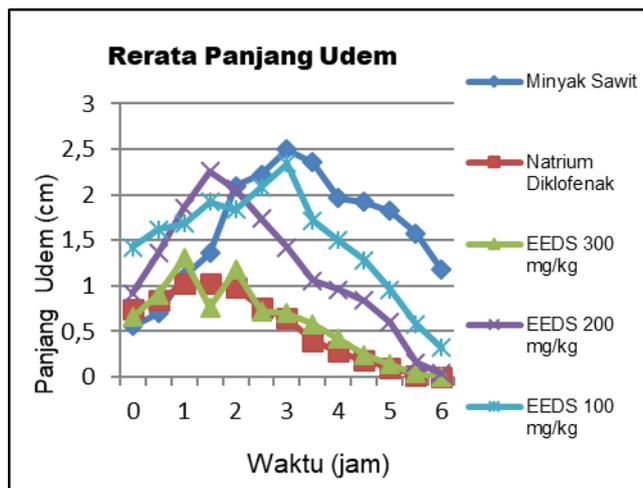
Penyarian dilakukan dengan soxhletasi menggunakan penyari etanol dengan perbandingan 1:5. Filtrat diuapkan menggunakan waterbath sampai terbentuk ekstrak kental. Ekstrak kental dikeringkan sampai semua etanol menguap agar ekstrak

terbebas dari etanol sehingga tidak toksik. Rendemen yang diperoleh yaitu 8,30 % b/b

Aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun srikaya dilakukan terhadap hewan uji mencit yang diinduksi karagenin pada telapak kaki mencit secara intraplantar. Pengamatan dilakukan terhadap panjang udem yang terjadi sebelum dan sesudah diinduksi karagenin. Induksi karagenin dilakukan pada waktu 5 menit setelah pemberian sediaan uji. Karagenin sebagai senyawa iritan menginduksi terjadinya cedera sel melalui pelepasan mediator yang mengawali proses inflamasi. Pada saat terjadi pelepasan mediator inflamasi terjadi udem maksimal dan bertahan selama 6 jam dan berangsur-angsur berkurang dalam waktu 24 jam. Keuntungan dari penggunaan karagenin antara lain tidak menimbulkan kerusakan jaringan, tidak menimbulkan bekas, memberikan respon yang lebih peka terhadap obat antiinflamasi lain. Sebagai senyawa iritan karagenin menginduksi cedera sel dengan pelepasan mediator yang mengawali proses inflamasi. Pada awalnya masih terjadi adaptasi untuk melepaskan mediator inflamasi, berarti pelepasan mediator inflamasi belum maksimal. Pelepasan inflamasi maksimal, maka terjadi udem maksimal hingga bertahan selama beberapa jam. Aktivitas antiinflamasi yang diperoleh dibandingkan dengan aktivitas natrium diklofenak.

Sebagai salah satu jenis dari obat NSAID, Na-diklofenak masuk dalam golongan diklofenak Na-diklofenak memiliki efek analgesik, antirematik, antipiretik dan antiinflamasi. Obat tersebut merupakan COX-inhibitor nonselektif yang bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase (COX). Enzim siklooksigenase berperan dalam produksi sejumlah zat kimia dalam tubuh, salah satunya prostaglandin. Prostaglandin ini diproduksi oleh tubuh sebagai respon dari cedera sehingga syaraf akan lebih sensitif terhadap rasa nyeri.

Panjang udem yang diperoleh untuk menentukan nilai AUC, digunakan untuk menentukan presentase aktivitas antiinflamasi dari beberapa perlakuan kemudian dibandingkan antara perlakuan. Mencit yang memiliki harga AUC besar menunjukkan bahwa mencit tersebut mengalami pembengkakan yang besar pula. Harga AUC diperoleh dari hasil pengamatan panjang udem telapak kaki mencit yang diinduksi karagenin yang diukur setiap setengah jam selama enam jam.



Harga kumulatif AUC yang diperoleh digunakan untuk menghitung presentase aktivitas antiinflamasi (% DAI). Presentase aktivitas antiinflamasi ditunjukkan pada tabel 1. Pada gambar 4 menunjukkan hasil presentase aktivitas antiinflamasi pada mencit yang diinduksi karagenin antar sediaan uji. Ekstrak etanol daun srikaya pada dosis 300 mg/KgBB, 200 mg/KgBB dan 100 mg/KgBB memiliki aktivitas antiinflamasi sebesar $(68,19 \pm 1,50)$, $(35,22 \pm 2,54)$ dan $(19,40 \pm 3,58)\%$. Aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun srikaya lebih kecil dari natrium diklofenak 6,5 mg/KgBB yaitu $(71,12 \pm 1,99)\%$.

Analisis statistik dengan uji dengan uji *One-sampel Kolmogorov Smirnov Test* yang menunjukkan harga $P > 0,05$ berarti data berdistribusi normal untuk tiap perlakuan. *Uji Test of Homogeneity of Variances*, yaitu diperoleh hasil nilai $P (0,104) > 0,05$ data yang diperoleh mempunyai varian yang homogen. Hasil data yang diperoleh dari pengujian antiinflamasi ini selanjutnya dianalisis secara statistik dengan uji ANOVA untuk melihat adanya perbedaan nyata atau tidaknya efek antiinflamasi dari kelima perlakuan yang sebelumnya harus memenuhi syarat normalitas dan homogenitas data. Berdasarkan hasil uji ANOVA tersebut diperoleh nilai $p (0,0001) < 0,05$ sehingga ada perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Dilakukan uji *Post Hoc Test (LSD)*, dosis pemberian antara natrium diklofenak dengan ekstrak dosis 200 mg/KgBB dan ekstrak dosis 100 mg/KgBB, memiliki nilai $P (0,0001) < 0,05$ maka H_0 di tolak sehingga ada perbedaan yang signifikan.. Dosis pemberian antara natrium natrium diklofenak diklofenak dengan dosis 300 mg/KgBB nilai $P (0,203) > 0,05$, maka H_0 diterima maka tidak ada perbedaan yang signifikan.

V. SIMPULAN

Ekstrak etanol daun srikaya memiliki aktivitas antiinflamasi pada mencit yang diinduksi karagenin. Ekstrak etanol daun srikaya pada dosis 300 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB memberikan aktivitas antiinflamasi pada mencit yang diinduksi karagenin berturut-turut yaitu sebesar $(68,19 \pm 1,50)\%$, $(35,22 \pm 2,54)\%$ dan $(19,40 \pm 3,58)\%$.

Dosis efektif ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa L*) yang memberikan aktifitas antiinflamasi sebanding dengan kontrol positif adalah 300 mg/kgBB.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansel. H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi IV*. UI Press.. Jakarta.
- Corwin, E.J. 2008. *Handbook of pathophysiology 3th edition*. Philadelphia, Lippincort Williams dan Wilkins.
- Dirjen POM, 2000. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional Edisi 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakrta.
- Dirjen POM. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi III*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Kusmardiyani, S., Wandasari, F., Wirasutisna, K.R. 2012. Telaah Fitokimia Daun Srikaya (*Annona squamosa L*) yang Berasal dari Dua Lokasi Tumbuh. *Acta Pharmaceutica Indonesia Vol XXXVII No.1, 9-13*
- Lumbanraja, L. B. (2009). *Skrining Fitokimia dan Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (Sonchus arvensis L.) terhadap Radang pada Tikus*. <http://repository.usu.ac.id/bitsream/123456789/14501/1/09E02475.pdf>.
- Lutfianto, I. (2009). *Mekanisme pada Injury Jaringan Inflamasi*. <http://forbetterhealth.wordpress.com/2009/01/25/mekanisme-pada-injury-jaringan-inflamasi/>
- Mutschler, Ernst. (1991). *Dinamika Obat*. Edisi kelima. Bandung: Penerbit ITB. Hal. 643-650.
- Pramitaningastuti, A.S., Anggraey, E.N. 2017. Uji Efektifitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Srikaya (*Annona*

- squamosa L)* Terhadap Udema Kaki Putih Jantan Galur Wistar. *Jurnal Ilmiah Farmasi (13)*, 8-13
- Sudjadi. 1986. *Metode Pemisahan*. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Supriadi. 2001. *Tumbuhan Obat Indonesia : Penggunaan dan Khasiatnya*. Pustaka Popular. Jakarta.
- Thomas, A.N.S. 1992. *Tanaman Obat Tradisional 2*. Kanisius, Yogyakarta.