

**UJI EFEK ANTIINFLAMASI KOMBINASI ASTAXANTHIN DAN EKSTRAK ETANOL
70% DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Nees) DENGAN PARAMETER
HITUNG JENIS NEUTROFIL APUS DARAH TEPI
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
GALUR WISTAR**

Desra Aufar Alwafi¹, Muhammad In'am Ilmiawan², Mistika Zakiah³

Intisari

Latar Belakang: Inflamasi merupakan suatu respon protektif yang muncul akibat terjadinya cedera atau kerusakan jaringan yang berfungsi menghancurkan agen penyebab cedera. Respon inflamasi yang berlebihan dapat menimbulkan suatu penyakit. Terapi yang diberikan pada respon inflamasi masih menimbulkan beberapa efek samping yang berbahaya. Astaxanthin dan ekstrak etanol 70% daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) diketahui memiliki efek antiinflamasi diharapkan mampu menjadi alternatif terapi yang tidak menimbulkan efek samping yang merugikan. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antiinflamasi kombinasi astaxanthin dan ekstrak etanol 70% daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). **Metode:** Penelitian ini merupakan ekperimental murni dengan complete randomized design. 30 ekor tikus putih galur Wistar sebagai hewan uji yang dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok 1 diberikan kombinasi astaxanthin 0,108 mg/hari dan ekstrak ekstrak etanol 70% daun sambiloto 900 mg/kgBB/hari; kelompok 2 diberikan kombinasi astaxanthin 0,216 mg/hari dan ekstrak ekstrak etanol 70% daun sambiloto 900 mg/kgBB/hari; kelompok 3 diberikan kombinasi astaxanthin 0,432 mg/hari dan ekstrak ekstrak etanol 70% daun sambiloto 900 mg/kgBB/hari; kelompok kontrol positif diberikan celecoxib 18 mg/kgBB/hari; dan kelompok kontrol negatif diberikan CMC 1 mL. Kemudian dilakukan induksi inflamasi menggunakan karagenin 1 jam setelah pemberian obat. Selanjutnya dilakukan pengambilan darah pada vena lateralis ekor pada jam ke-0,4,8,12 untuk dihitung jumlah neutrofil sampel. Data kemudian diuji statistik menggunakan SPSS versi 23.0. **Hasil:** Terjadi penekanan rerata hitung jenis neutrofil yang signifikan (LSD $p < 0,05$) pada jam ke-12 kelompok perlakuan 1 dan 2 yang setara dengan kontrol positif, kelompok perlakuan 3 tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kontrol negatif. **Kesimpulan:** Kombinasi astaxanthin dengan dosis efektif 0,108 mg/hari dan ekstrak etanol 70% daun sambiloto 900 mg/KgBB memiliki efek antiinflamasi.

Kata Kunci: Inflamasi, Astaxanthin, Ekstrak etanol 70% daun sambiloto, Neutrofil

- 1) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat.
- 2) Departemen Biologi dan Patobiologi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat.
- 3) Departemen Histologi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat.

ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF COMBINED ASTAXANTHIN AND 70% ETHANOLIC EXTRACT OF SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Nees) ON NUMBERS OF NEUTROPHILS IN WISTAR RATS (*Rattus norvegicus*)

Desra Aufar Alwafi¹, Muhammad In'am Ilmiawan², Mistika Zakiah³

Abstract

Background: Inflammation is a protective response to injury or tissue damage that serves to destroy the causative agent of injury. Excessive inflammatory responses can cause harmful effects. Therapies that are given to combat inflammatory response have some adverse drugs effects. Astaxanthin and 70% ethanolic extract of sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) are known to have anti-inflammatory effects that are expected to be one of the alternative therapeutic agents which have less or none adverse effects. **Objective:** The aim of this study is to determine the anti-inflammatory effect of the combination of astaxanthin and 70% ethanolic extract of sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). **Methodology:** This study used true experimental design with complete randomized posttest only control group design. Thirty wistar rats were divided into five groups. Group 1 was given astaxanthin at a dose of 0,108 mg/day and 70% ethanolic extract of sambiloto 900 mg/kg/day; Group 2 was given astaxanthin at a dose of 0,216 mg/day and 70% ethanolic extract of sambiloto 900 mg/kg/day; Group 3 was given astaxanthin at a dose of 0,432 mg/day and 70% ethanolic extract of sambiloto 900 mg/kg/day; positive control group was given celecoxib at a dose of 18 mg/kg/day; and negative control group was given 1 ml of CMC. Wistar rats were given ceragenin injection an hour after drugs administration. Blood samples were taken via lateral tail vein in rats. Blood samples were collected at time intervals of 0, 4, 8, 12 hours to count the number of neutrophils presented. Data were analyzed using SPSS 23.0 **Results:** There is a significant decreases of differential counts of neutrophils (LSD $p < 0.05$) on the first twelve hours in the second and third group, as well as in the positive group. However, group 3 and showed no difference **Conclusions:** Efective dosage combination of astaxanthin 0,108 mg/day and 70% ethanolic extract of sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) 900 mg/kg/day have anti-inflammatory effect.

Keywords: Inflammation, Astaxanthin, Extract, 70% ethanolic extract of sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees), Neutrophil

- 1) Medical Education Program, Faculty of Medicine, Tanjungpura University Pontianak, West Borneo.
- 2) Department of Biology and Pathobiology, Medical Education Program, Faculty of Medicine, Tanjungpura University Pontianak, West Borneo.
- 3) Department of Histology, Medical Education Program, Faculty of Medicine, Tanjungpura University Pontianak, West Borneo.

PENDAHULUAN

Inflamasi adalah respon protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan jaringan yang berfungsi menghancurkan, mengurangi atau mengurung (*sekustras*) baik agen yang menimbulkan cedera maupun jaringan yang cedera tersebut.¹ Respon ini dapat ditimbulkan oleh infeksi mikroba, agen fisik, zat kimia, jaringan nekrotik atau reaksi imun. Inflamasi merupakan suatu gejala yang berhubungan dengan setiap penyakit. Osteoarthritis (OA) dan reumatoid arthritis (RA) merupakan dua di antara penyakit-penyakit yang berhubungan dengan inflamasi yang paling umum dijumpai. Prevalensi RA di dunia tertinggi didapatkan di Pima India 5,3 % dan Chippewa India 6,8%. Sedangkan Cina, Jepang, Indonesia dan Philipina sekitar 0,2%-0,3%.^{2,3} Prevalensi OA lutut di Amerika Serikat sebesar 13,9% pada umur >25 tahun.³ Prevalensi OA lutut di Indonesia secara radiologis mencapai 15,5% pada pria dan 12,7% pada wanita.⁴ Rasa sakit yang biasa dialami oleh para penderita kebanyakan diatasi dengan menggunakan Obat Anti Inflamasi Non-Steroid (OAINS)

Inflamasi dapat diobati dengan menggunakan obat antiinflamasi non-steroid (OAINS) namun OAINS memiliki efek samping yang dapat menyebabkan gangguan gastrointestinal (GI), *analgesic nephropathy*, mengganggu fungsi platelet, dan menghambat induksi persalinan karena digunakan dalam jangka panjang.

Astaxanthin adalah antioksidan yang diperoleh dari ekstrak algae yang memiliki efek sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Mekanisme kerjanya melalui penekanan pada I κ B kinase dan aktivasi Nf- κ B yang mengakibatkan penekanan pada ekspresi COX-2 secara selektif dan menekan pembentukan TNF- α dan IL-1 β . Menurut Penelitian yang dilakukan Bangsawan, 2012 bahwa terdapat penurunan ekspresi dari COX-2 dengan pemberian astaxanthin terhadap parameter kadar limfosit dan neutrofilnya.⁵ Astaxanthin juga berefek sitoprotektif pada mukosa lambung melalui mekanisme mencegah pembentukan peroksidasi lipid.⁶

Tanaman Obat yang memiliki efek antiinflamasi diantaranya adalah Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness). Penelitian yang dilakukan Evacuasiyany *et al* menunjukkan hasil bahwa ekstrak etano 70% daun Sambiloto pada dosis 0,9g/KgBB menunjukkan efek penghambatan radang.⁷ Andrographolide merupakan senyawa aktif fitokimia golongan diterpenoid yang terdapat pada sambiloto, senyawa ini berfungsi sebagai antiinflamasi. Andrographolide menghambat jalur aktivasi Nf- κ B .

Berdasarkan data-data dan penelitian-penelitian tersebut di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui uji efek antiinflamasi kombinasi astaxanthin dan ekstrak Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) terhadap jumlah neutrofil pada tikus putih galur wistar.

METODOLOGI

Bahan

1. Instrumen yang digunakan adalah:

Instrumen yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus, timbangan untuk menimbang berat badan tikus, timbangan listrik (*Denver Instrument Company AA-160*) untuk menimbang bahan uji, pipet untuk memberi cairan obat uji pada tikus uji, spuit *disposable* 1 ml dan 5 ml, sarung tangan kulit, sonde untuk memasukkan obat pada lambung tikus, gelas ukur, mortir dan penggerus, spuit injeksi untuk menyuntikkan karagenin ke telapak kaki tikus, *stopwatch* untuk mengukur waktu pengamatan, kaca objek, kaca penutup, dan mikroskop cahaya

2. Bahan yang digunakan adalah:

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah astaxanthin tablet dengan mutu farmasetik dengan *Certificate of analysis* dari PT Futamed, ekstrak etanol 70% sambiloto, celecoxib tablet, aquadest, pakan pellet hewan, alkohol absolut, 100 mg Karagenin 1%, NaCl 0,9% 500 ml, CMC (*Carboksil metyl Celulosa*) 0,5%, bahan untuk pengecatan giemsa, dan sampel darah tikus putih dewasa galur wistar.

Hewan Uji

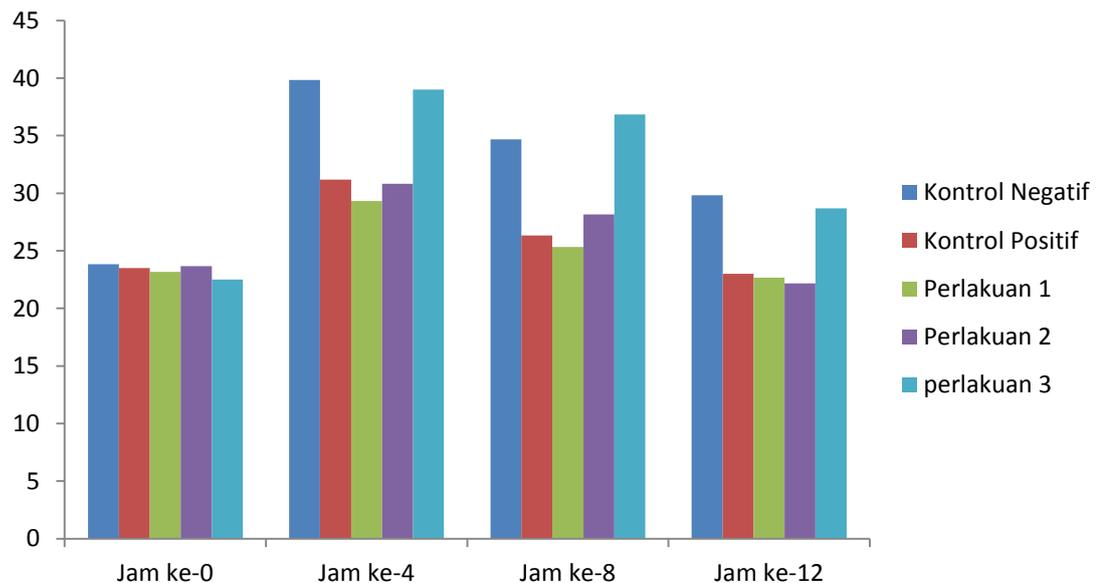
Tikus yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar. Sampel yang digunakan adalah tikus putih galur Wistar sebanyak 30 ekor dengan umur 3 bulan dengan berat badan 180-200 gram. Sampel diadaptasikan dengan lingkungan laboratorium selama 7 hari dan dibagi secara acak menjadi 5 kelompok. Pemberian makanan adalah pakan standar dan minum *ad libitum*.

Prosedur Penelitian

Kelompok uji terdiri dari kelompok kontrol negatif, kontrol positif, kelompok perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3. Untuk mendapatkan efek yang optimal, sebelum dilakukan intervensi dengan bahan uji semua sampel dipuasakan terlebih dahulu selama 18 jam dikarenakan terdapat pengaruh enzim dalam saluran cerna terutama pepsin sehingga dapat mengganggu penyerapan senyawa-senyawa kimia dalam bahan uji tersebut. Selanjutnya masing-masing kelompok uji diintervensi dengan bahan uji. Kelompok kontrol negatif diberikan CMC 0,5%, kelompok kontrol positif diberikan celecoxib 3,6mg/hari, kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 diberikan astaxanthin dengan dosis bertingkat 0,108mg/KgBB, 0,216mg/KgBB, 0,432mg/KgBB dan ekstrak etanol 70% daun sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness) dengan dosis 900mg/KgBB. Setelah satu jam pemberian bahan uji, masing-masing kelompok uji diinduksi inflamasi dengan karagenin 1% pada bagian subplantar kaki tikus dan dilanjutkan dengan pengambilan darah pada bagian vena lateralis ekor tikus uji. Pengambilan darah dilakukan pada jam ke 0,4,8,12 yang dilanjutkan dengan pembuatan sediaan apus darah tepi pada kaca objek dan diberi pewarnaan Giemsa. Pada sediaan apus darah tepi yang telah diwarnai dilakukan penghitungan rerata hitung jenis neutrofil dengan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 100x. Penghitungan kadar neutrofil dilakukan dengan jumlah neutrofil yang ditemukan dari 100 sel darah merah yang terhitung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

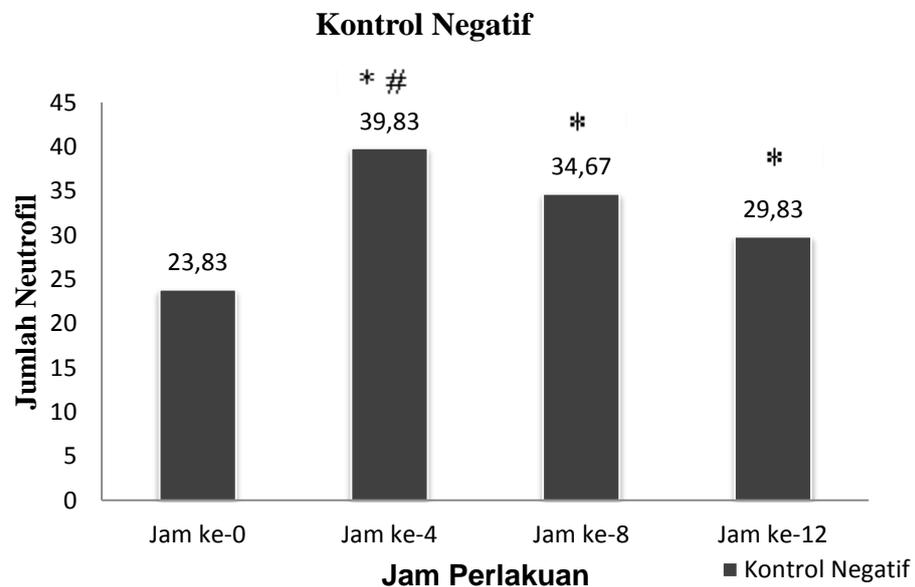
Perbandingan Hasil Perhitungan Rerata Hitung Jenis Neutrofil Pada Semua Kelompok



Gambar 4.1 Rerata Hitung Jenis Neutrofil Pada Semua Kelompok Perlakuan dan Setiap Jam Perlakuan

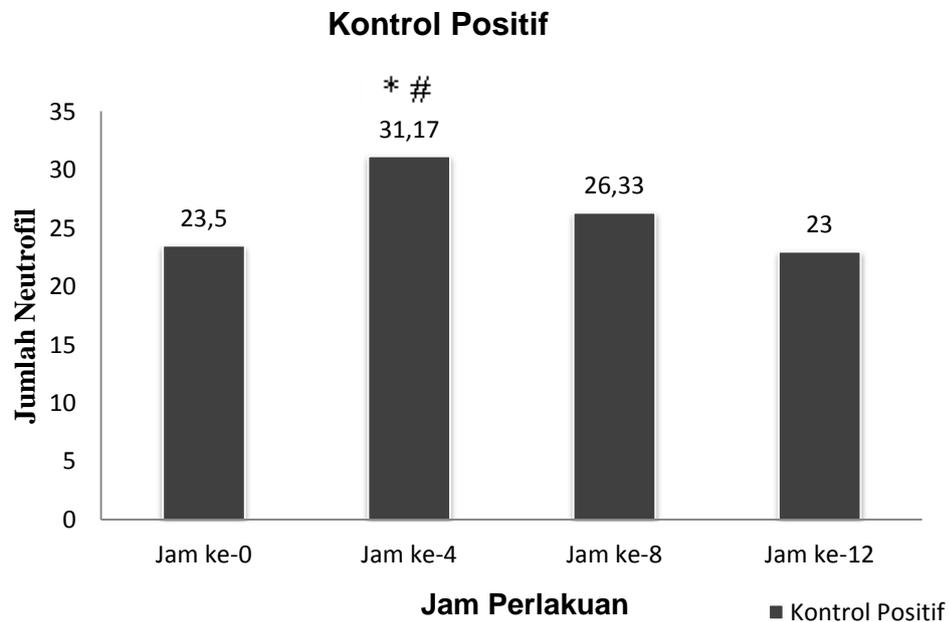
Perbandingan hasil perhitungan rerata hitung jenis neutrofil pada semua kelompok berdasarkan jam perlakuan, pada gambar 4.2 dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan rerata hitung jenis neutrofil pada jam ke-4 pada semua kelompok dan mulai terjadi penerunan secara berangsur-angsur hingga jam ke-12, namun pada kelompok perlakuan 3 di jam ke-12 belum mengalami penurunan yang setara dengan kelompok kontrol positif dan masih berbeda jauh dengan jam ke-0.

Rerata Hitung Jenis Neutrofil Berdasarkan Kelompok Perlakuan



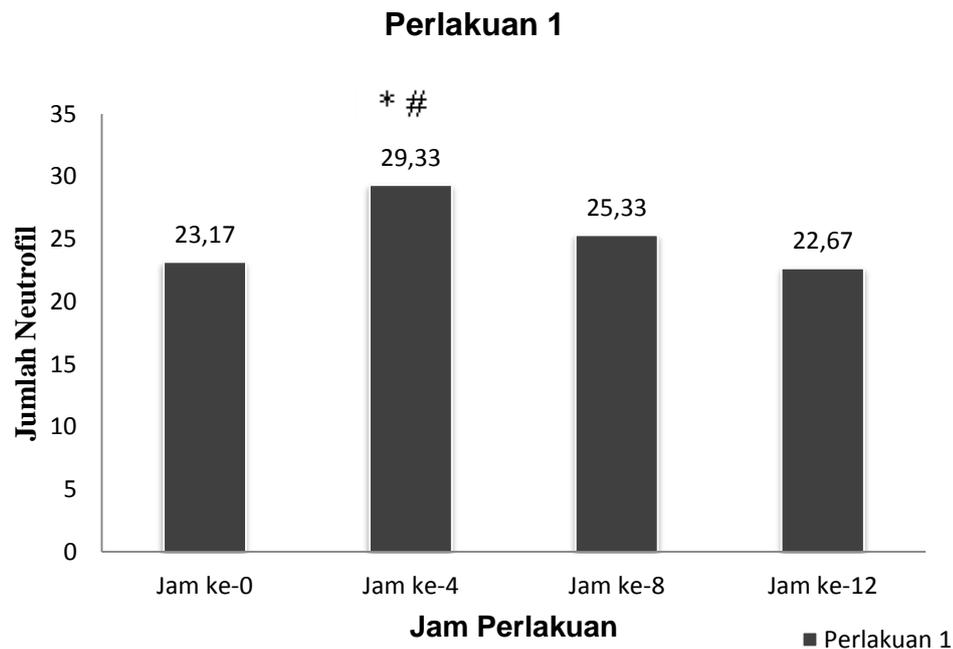
Gambar 4.3 Rerata Hitung Jenis Neutrofil Kontrol Negatif Pada Sediaan Apus Darah Tepi Sesuai Waktu Pengamatan.*Berbeda bermakna dengan jam ke-0; #Berbeda

Hasil rerata hitung jenis neutrofil berdasarkan gambar 4.3 menunjukkan terjadinya peningkatan neutrofil dari hitung jenis rata-rata normal pada jam ke-4 hal ini menandakan mulai terjadinya proses inflamasi, berdasarkan hasil analisis data bahwa terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$) antara jam ke-0 dan jam ke-4. Peningkatan neutrofil tetap bertahan hingga jam ke-8 dan terjadi penurunan hitung jenis neutrofil pada jam ke-12 namun belum kembali ke rerata hitung jenis normalnya hal ini dibuktikan dengan analisis data masih terdapat perbedaan bermakna antara jam ke-12 dan jam ke-0 yang dapat dilihat pada gambar 4.3.



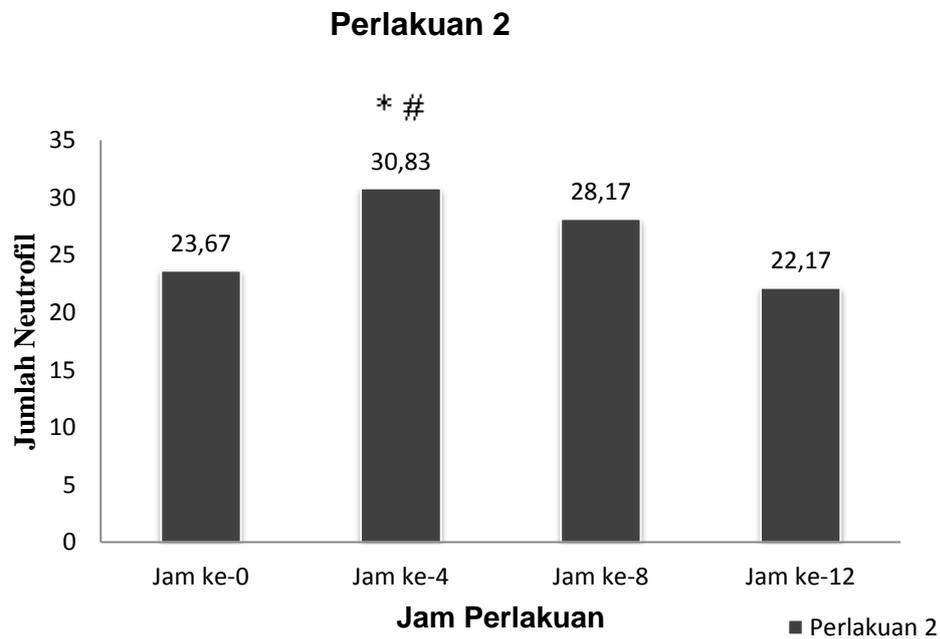
Gambar 4.4 Rerata Hitung Jenis Neutrofil Kontrol Positif Pada Sediaan Apus Darah Tepi sesuai waktu pengamatan.*Berbeda bermakna dengan jam ke-0; #Berbeda bermakna dengan jam ke-

Pada Gambar 4.4 menunjukkan hasil hitung jenis rata-rata neutrofil pada kelompok kontrol positif yang diberikan perlakuan celecoxib, mengalami peningkatan pada jam ke-4, terjadi perbedaan bermakna ($p < 0,05$) antara jam ke-0 dan jam ke-4 yang menandakan bahwa pada jam ke-4 sudah terjadi proses inflamasi, namun pada jam ke-8 hingga jam ke-12 hitung jenis neutrofil berangsur-angsur mulai mengalami penurunan rata-rata hitung jenis normalnya dan secara analisis data tidak terjadi perbedaan bermakna dengan jam ke-0.



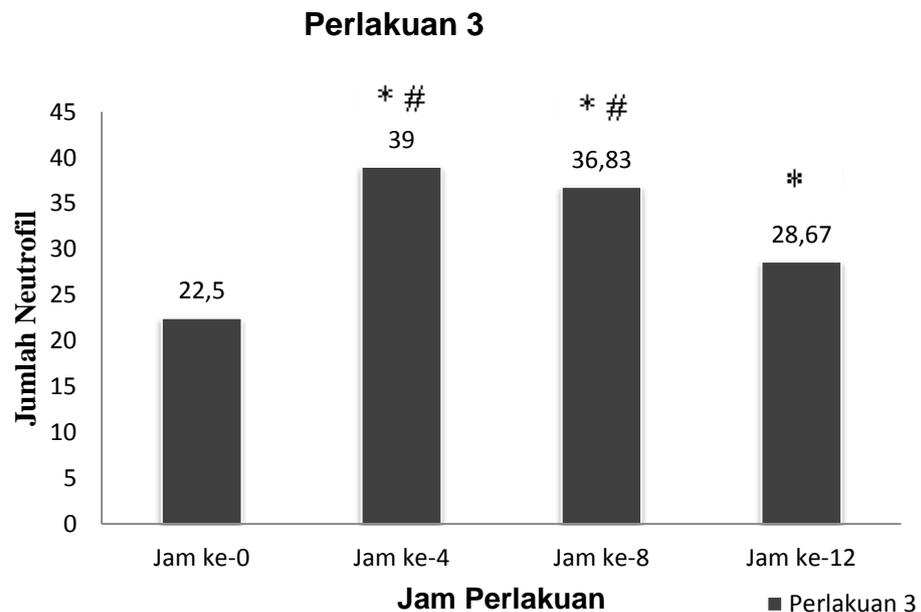
Gambar 4.5 Rerata Hitung Jenis Neutrofil Perlakuan 1 Pada Sediaan Apusan Darah Tepi sesuai waktu pengamatan.*Berbeda bermakna dengan jam ke-0; #Berbeda

Hasil analisis rerata hitung jenis neutrofil pada kelompok perlakuan 1 (astaxanthin 0,108mg/hari + ekstrak sambiloto 900mg/KgBB) pada diagram diatas (gambar 4.5) menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar rata-rata neutrofil pada jam ke-4 yang melebihi nilai normalnya, hal ini dibuktikan dengan hasil analisis bahwa terjadi perbedaan bermakna ($p < 0,05$) antara jam ke-0 dan jam ke-4. Pada jam ke-8 dan ke-12 rata-rata hitung jenis neturofil mulai mengalami penurunan hingga kembali ke rata-rata normal nya, hal ini dibuktikan dengan analisis data pada jam ke-8 dan jam ke-12 tidak terdapat perbedaan bermakna ($p > 0,05$) dengan jam ke-0 yang dapat dilihat pada gambar 4.5.



Gambar 4.6 Rerata Hitung Jenis Neutrofil Perlakuan 2 Pada Sediaan Apus Darah Tepi sesuai waktu pengamatan.*Berbeda bermakna dengan jam ke-0; #Berbeda bermakna dengan jam ke-

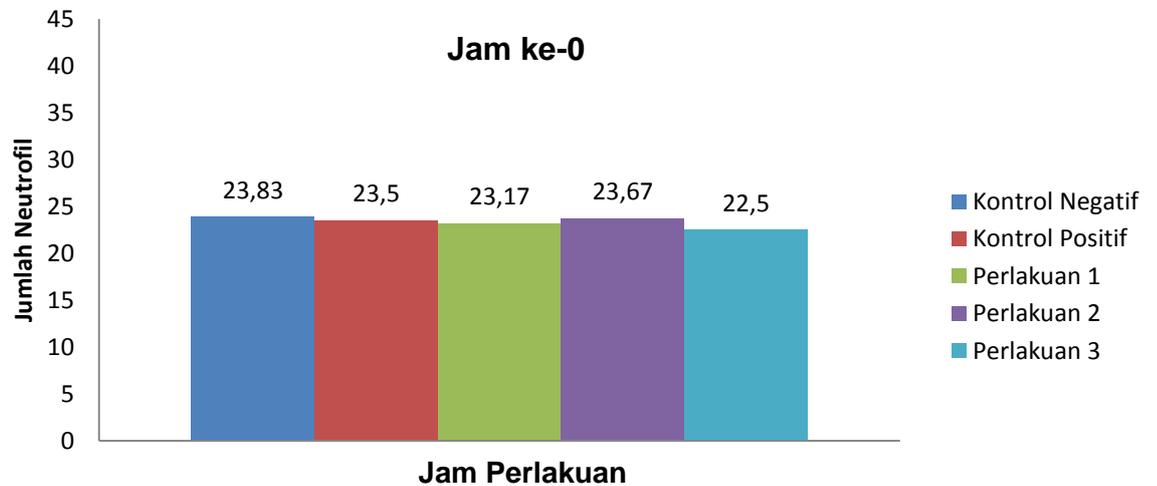
Hasil rerata hitung jenis neutrofil pada kelompok perlakuan 2 (astaxanthin 0,216mg/hari + ekstrak sambiloto 900mg/KgBB) menunjukkan terjadi peningkatan rerata hitung jenis neutrofil pada jam ke-4 dan mulai terjadi penurunan bertahap pada jam ke-8 hingga kembali ke rerata normal nya pada jam ke-12, hal ini dibuktikan berdasarkan hasil analisi data yang terdapat pada gambar 4.6, menunjukkan bahwa terjadi perbedaan bermakna ($p < 0,05$) pada jam ke-4 dan jam ke-0 maupun jam ke-12.



Gambar 4.7 Rerata Hitung Jenis Neutrofil Perlakuan 3 Pada Sediaan Apus Darah Tepi sesuai waktu pengamatan.*Berbeda bermakna dengan jam ke-0; #Berbeda bermakna dengan jam ke-12

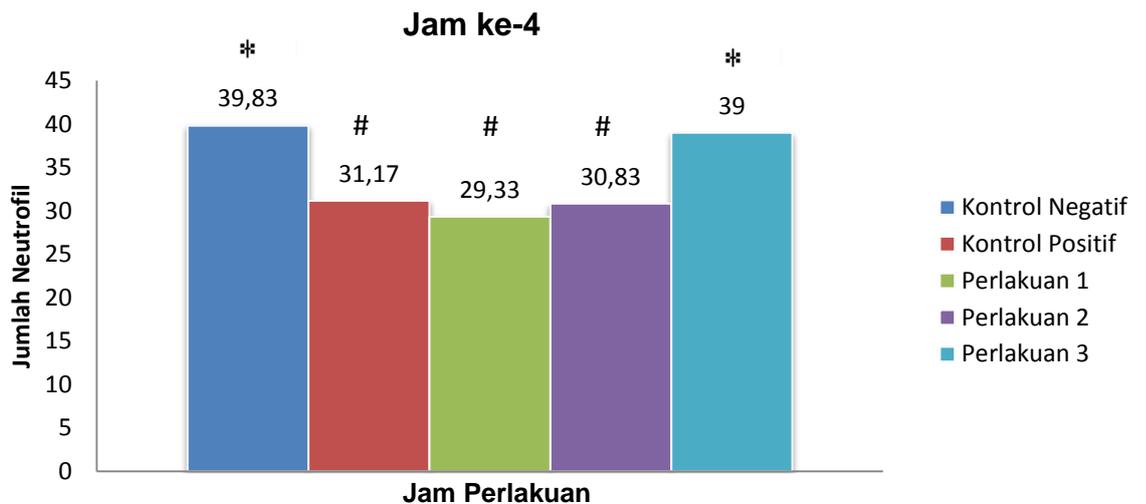
Rerata Hitung Jenis neutrofil pada kelompok perlakuan 3 menunjukkan mulai terjadi peningkatan hitung jenis rerata neutrofil pada jam ke-4 dan berangsur mengalami penurunan pada jam ke-8 hingga jam ke-12, namun penurunan rerata hitung jenis neutrofil tersebut belum mencapai rerata normalnya hal ini dibuktikan dengan hasil analisis data yang terdapat pada tabel 4.7 bahwa terjadi perbedaan bermakna ($p < 0,05$) antara jam ke-4, jam ke-8, dan jam ke-12 dengan jam ke-0.

Rerata Hitung Jenis Neutrofil Berdasarkan Waktu Perlakuan



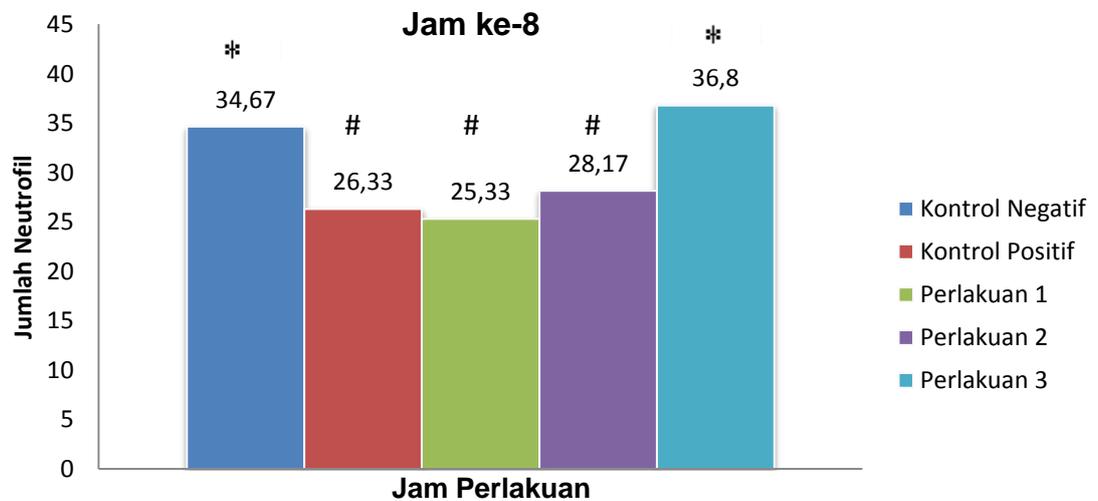
Gambar 4.8 Rerata Hitung Jenis Neutrofil Waktu Pengamatan Jam ke-0 Pada Sediaan Apus Darah Tepi.

Hasil pengamatan rerata hitung jenis neutrofil berdasarkan waktu perlakuan pada jam ke-0 disetiap masing-masing kelompok uji telah ditunjukkan pada diagram di atas (Gambar 4.7). Hasil pengamatan pada jam ke-0 yang dapat dilihat pada gambar 4.8 dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna secara statistik ($p > 0,05$) pada setiap kelompok percobaan. Hal ini menandakan bahwa pada jam ke-0 proses inflamasi belum berlangsung dan pada jam ke-0 dapat dijadikan dasar rerata hitung jenis neutrofil.



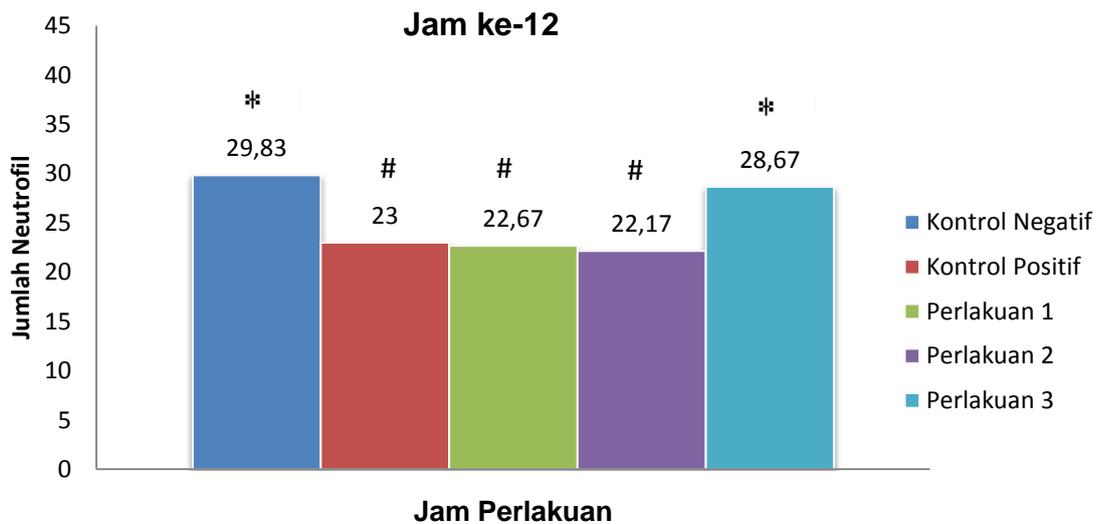
Gambar 4.9 Rerata Hitung Jenis Neutrofil Waktu Pengamatan Jam ke-4 Pada Sediaan Apus Darah Tepi. *,#Perbedaan simbol menunjukkan perbedaan hasil yang signifikan ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil analisis rerata hitung jenis neutrofil pada jam ke-4 yang terdapat pada gambar 4.9 mulai terjadi proses inflamasi hal ini dibuktikan terjadi peningkatan rerata hitung jenis neutrofil pada kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan 3 tidak terdapat perbedaan bermakna ($p > 0,05$) antara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan 3, sedangkan pada kelompok kontrol positif, perlakuan 1, dan perlakuan 2 tidak terdapat perbedaan bermakna antara tiga kelompok tersebut namun terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan 3. Hal ini menandakan bahwa pada jam ke-4 obat yang diberikan pada hewan uji kelompok kontrol positif, perlakuan 1 dan perlakuan 2 sudah mulai menunjukkan efek penekanan terhadap rerata hitung jenis neutrofil.



Gambar 4.10 Rerata Hitung Jenis Neutrofil Waktu Pengamatan Jam ke-8 Pada Sediaan Apus Darah Tepi. . *.#Perbedaan simbol menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Pada jam ke-8 rerata hitung jenis neutrofil kelompok kontrol positif, perlakuan 1, dan perlakuan 2 terdapat perbedaan bermakna secara statistik ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol negatif dan perlakuan 3. Hal ini menandakan pada kelompok kontrol positif, perlakuan 1, dan perlakuan 2 masih menunjukkan efek antiinflamasi dan belum terjadinya penekanan proses inflamasi pada kelompok perlakuan 3 hal ini dibuktikan secara statistik bahwa tidak terjadi perbedaan bermakna ($p > 0,05$) dengan kelompok kontrol negatif.



Gambar 4.11 Rerata Hitung Jenis Neutrofil Waktu Pengamatan Jam ke-12 Pada Sediaan Apus Darah Tepi. *,#Perbedaan simbol menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)

Rerata hitung jenis neutrofil pada jam ke-12 mengalami penurunan pada setiap kelompok perlakuan, pada kelompok kontrol positif, perlakuan 1, dan perlakuan 2 nilai rerata hitung jenis neutrofil sudah mengalami penurunan dan tidak berbeda bermakna dengan jam ke-0, namun pada kelompok kontrol negatif dan perlakuan 3 belum mengalami penurunan, hal ini menandakan bahwa dosis pada perlakuan 3 tidak menunjukkan efek antiinflamasi dimana kelompok perlakuan 3 tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$) dengan kontrol negatif.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian uji efek antiinflamasi kombinasi astaxanthin dan ekstrak etanol 70% daun sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness) terhadap hitung jenis neutrofil pada tikus putih galur wistar yang diinduksi karagenin telah dipaparkan sebelumnya. Berdasarkan hasil yang didapatkan pada kelompok kontrol negatif yang diberi CMC 0,5ml menunjukkan pada jam ke-4 terjadi peningkatan rerata hitung jenis jumlah neutrofil diatas nilai normalnya, hal ini menandakan telah terjadi proses inflamasi. Rerata hitung jenis neutrofil mulai menurun secara bertahap pada jam ke-8 hingga jam ke-12 namun rerata hitung jenis tersebut belum mencapai rerata normal hitung jenis neutrofil. Hal ini menandakan bahwa inflamasi yang timbul akibat injeksi karagenin bersifat akut. Inflamasi akut adalah proses peradangan yang berlangsung relatif singkat dan ditandai dengan akumulasi leukosit neutrofilik.⁸

Hasil uji pada kelompok kontrol positif yang diberikan celecoxib 3,6mg/hari menunjukkan adanya perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol negatif pada jam ke-4, ke-8, dan ke-12, dimana rerata hitung jenis neutrofil pada kelompok kontrol positif lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol negatif, hal ini membuktikan bahwa celecoxib dapat memberikan efek antiinflamasi dengan menghambat biosintesis dari prostaglandin oleh isoenzim COX-2 yang diinduksi pada tempat inflamasi.^{9,10} Celecoxib mulai menunjukkan efek antiinflamasi yang berbeda bermakna dengan kontrol negatif pada jam ke-4, hal ini dikarenakan celecoxib yang diberikan secara oral memiliki kadar puncak plasma (Cmax) 2-4 jam setelah pemberian.¹⁰

Pada kelompok perlakuan 1 yang diberikan astaxanthin 0,108mg/hari dan ekstrak sambiloto 900mg/KgBB menunjukkan hasil yang berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif pada jam ke-4, ke-8, ke-12 dan terjadi penurunan rerata hitung jenis neutrofil dibandingkan dengan kontrol positif namun penurunan tersebut tidak berbeda bermakna secara statistik. Pada kelompok perlakuan 1 proses penekanan terhadap rerata

hitung jenis neutrofil mulai terjadi pada jam ke-4 dan berlanjut hingga jam ke-12, pada jam ke-12 rerata hitung jenis neutrofil sudah mencapai nilai normalnya hal ini dibuktikan tidak terdapat perbedaan bermakna dengan jam ke-0. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi astaxanthin 0,108mg/hari dan ekstrak sambiloto 900mg/KgBB memiliki efek antiinflamasi. Hasil penelitian ini juga didukung penelitian lain yang mengamati efek antiinflamasi dari astaxanthin. Penelitian yang dilakukan Seon jin lee (2003) menunjukkan hasil bahwa astaxanthin memiliki efek antiinflamasi dengan menghambat aktivasi dari Nf- κ B sehingga menekan produksi dari mediator inflamasi. Adrian F Gal *et al* (2012) yang meneliti efek astaxanthin pada tikus galur wistar yang diinduksi pembentukan tumor menggunakan N-methyl-N-nitroso-urea (MNU), dimana dilakukan pemberian astaxanthin dengan dosis 50mg/kgBB menunjukkan hasil bahwa astaxanthin memiliki efek antiinflamasi sebagai antioksidan dengan menekan produksi ROS (*reactive oxygen species*).¹¹ Penelitian yang dilakukan Kurashige *et al* (1990) menunjukkan bahwa inflamasi yang diinduksi dengan karagenin pada kaki tikus secara signifikan dapat dihambat dengan pemberian astaxanthin.¹² Astaxanthin sebagai antiinflamasi, menghambat produksi dari NO dan prostaglandin E₂ (PGE₂) dengan melakukan penekanan terhadap *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) dan COX-2 sehingga menghambat produksi sitokin proinflamasi TNF- α dan IL-1 yang berperan dalam agregasi neutrofil.^{4,14} NO dan PGE₂ diproduksi oleh makrofag yang diaktivasi oleh sistem imun pada tempat yang mengalami inflamasi.¹³

Selain astaxanthin yang menunjukkan efek antiinflamasi, diketahui juga bahwa ekstrak daun sambiloto juga dapat berperan sebagai antiinflamasi. Pada tanaman sambiloto terdapat kandungan senyawa andrographolide, senyawa ini diketahui memiliki peran antiinflamasi dengan melakukan penekanan terhadap iNOS dan Nf- κ B sehingga menghambat produksi NO dan sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1 yang berperan dalam agregasi neutrofil.¹⁴ Terdapat beberapa penelitian

yang membuktikan bahwa sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness) memiliki efek antiinflamasi. Penelitian yang dilakukan K Sheeja *et all* (2006) melihat efek antiinflamasi dari sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness) pada tikus yang diinjeksi karagenin dan diberi ekstrak sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness) 10mg/kgBB intraperitoneal menunjukkan bahwa sambiloto memiliki efek antiinflamasi dengan menghambat produksi NO pada kondisi *in vitro*.¹⁶ Radhika *et all* (2009) meneliti efek antiinflamasi ekstrak kloroform sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness) pada tikus putih galur wistar yang diinjeksi dengan karagenin 1% dan diberi ekstrak kloroform sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness) 100mg/kgBB dan 200mg/kgBB menunjukkan hasil bahwa ekstrak kloroform sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness) memiliki efek antiinflamasi pada jam ke-6 setelah pemberian.¹⁷ Penelitian lain yang dilakukan Endang Evacusiany yang meneliti efek antiinflamasi ekstrak etanol 70% sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness) pada dosis 900mg/KgBB menunjukkan efek antiinflamasi pada tikus.⁷ Menurut penelitian yang dilakukan Juti levita *et all* (2010) sambiloto memiliki efek antiinflamasi dengan cara menghambat aktivasi dari Nf-k β , menekan iNOS, menghambat ekspresi COX-2 dan mencegah produksi ROS yang dihasilkan neutrofil.¹⁸

Pada kelompok perlakuan 2 (astaxanthin 0,216mg/hari + ekstrak sambiloto 900mg/KgBB) menunjukkan efek antiinflamasi, penekanan terhadap neutrofil dimulai pada jam ke-8 dan jam ke-12 hingga neutrofil mencapai hitung jenis normalnya dan tidak berbeda bermakna secara statistik dengan jam ke-0. Tidak terdapat perbedaan bermakna secara statistik antara kelompok perlakuan 2 dengan kelompok kontrol positif dan perlakuan 1. Hal ini membuktikan bahwa pada kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2 memiliki efek antiinflamasi yang setara dengan celecoxib. Pada kelompok perlakuan 3 yang diberi astaxanthin 0,342mg/hari dan ekstrak sambiloto 900mg/KgBB menunjukkan hasil yang tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan CMC 0,5mg hal ini menandakan bahwa pada kelompok perlakuan 3 tidak

menunjukkan efek antiinflamasi, hal ini dibuktikan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna rerata hitung jenis neutrofil hingga pada ke-12 dengan kelompok kontrol negatif. Tidak terdapatnya efek antiinflamasi pada kelompok perlakuan 3 yang diberikan dosis astaxanthin 0,342mg/hari dan ekstrak sambiloto 900mg/KgBB diduga tidak bekerja secara sinergis dengan peningkatan dosis astaxanthin dan diketahui bahwa kandungan flavonoid yang tinggi terdapat pada tanaman sambiloto memiliki sifat sebagai prooksidan. Hal ini juga didukung dari hasil penelitian yang dilakukan wanwisa *et all* (2005) dimana ekstrak tanaman sambiloto menunjukkan efek prooksidan terhadap eritrosit manusia. Efek prooksidan ini akan memicu terjadinya inflamasi melalui jalur alternatif yang akan mengaktivasi dari Nf-k β serta mediator inflamasi lain seperti IL-1 dan TNF- α , sehingga terjadi aktivasi enzim COX-2 dan terjadi peningkatan neturofil didalam aliran darah.

Pada masing-masing kelompok perlakuan, terdapat dua kelompok yang memiliki efek antiinflamasi yang setara dengan kelompok perlakuan positif yang diberi celecoxib, yaitu kelompok perlakuan 1 dan 2 yang memiliki dosis yang berbeda, dosis efektif dimiliki oleh kelompok perlakuan 1 yang diberi 0,108mg/hari + ekstrak sambiloto 900mg/KgBB, dimana kelompok 1 memiliki dosis yang lebih kecil dan sudah memberikan efek antiinflamasi yang setara dengan celecoxib jika dibandingkan dengan kelompok 2 yang merupakan dua kali dosis kelompok 1.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. Kombinasi astaxanthin dan ekstrak etanol 70% daun sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness) memberikan efek antiinflamasi dengan menekan jumlah hitung jenis neutrofil.
2. Kombinasi astaxanthin dosis 0,108mg/hari dan ekstrak sambiloto 900mg/KgBB merupakan dosis efektif sebagai antiinflamasi.

B. SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui farmakokinetik kombinasi astaxanthin dan ekstrak etanol 70% daun sambiloto.
2. Pada penelitian selanjutnya perlu penambahan paramter dalam uji efek antiinflamasi kombinasi astaxanthin dan ekstrak etanol 70% daun sambiloto, yatu dengan mengukur volume edema pada kaki tikus yang diinjeksi karagenin. Karagenin mampu meberikan efek perubahan selular dan perubahan vaskular yang ditandai dengan adanya edema pada kaki tikus.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dorland W. Kamus Kedokteran Dorland. 31st ed. Jakarta: EGC; 2010.
2. Helmick C, Felson D, Lawrence R. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. *Natl Arthritis Data Work.* 2008;15–25.
3. Silman A, Pearson J. Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* 2009;72–265.
4. Soeroso J, Isbagio H, Kalim H, Broto R, Pramudiyo R. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. 4th ed. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FK UI; 2006. 1205-11 p.
5. Bangsawan P. Efek Antiinflamasi Astaxanthin Terhadap Volume Edema dan Ekspresi COX 2 dengan Penggunaan Parameter Limfosit dan Netrofil Pada Tikus Putih Dewasa Galur Wistar. Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya Tesis (inpres); 2012.
6. Protective Effect of Astaxanthin on Naproxen-Induced Gastric Antral Ulecreation in Rats. *Eur J Pharmacol.* 2005;1:53.
7. W Evacuansy E, Soebiantoro F. Pemanfaatan Ekstrak *Andrographis Paniculata* Nees dan *Aloe Vera L* Sebagai Anti Inflamasi. *Farmakol Fak Kedokt Univ Kristen Maranatha.* 2002;1:1.
8. Kumar, Cotran, Robbins. Buku Ajar Patologi Robbins. 7th ed. Jakarta: EGC; 2012.

9. Katzung B. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. 10th ed. Jakarta: EGC; 2010. 589-592 p.
10. Joel G. Hardman, Lee E. Limbird, editors. *Goodman & Gilman Dasar Farmakologi Terapi*. 10th ed. Vol. 2. Jakarta: EGC; 2014.
11. Adrian F Gal, Sanda Andrei, Cristina Cernea, Marian Taulescu, Cornel Catoi. Effects of astaxanthin supplementation on chemically induced tumorigenesis in Wistar rats. 2012;3–6.
12. Michi Kurashige, Eiji Okimasu, Masayasu Inoue, Kozo Utsumi. Inhibition of Oxidative Injury of Biological Membranes by Astaxanthin. *Physiol Chem Phys Med*. 1990;22:27–38.
13. Kumar, Cotran, Robbins. *Buku Ajar Patologi Robbins*. 7th ed. Jakarta: EGC; 2012.
14. Guastadisegni, C, Nicolini, A, Baldauzzi, M, Ajmone-Cat, M, Minghetti, L. Modulation of PGE2 and TNF- α by nitric oxide and LPS-activated RAW 264.7 cells. *Cytokine*. 2002;19:175–80.
15. Wen-Wan Chao, Yueh-Hsiung Kuo, Shie-Liang Hsieh, Bi-Fong Lin. Inhibitory Effects of Ethyl Acetate Extract of *Andrographis paniculata* on NF- κ B Trans-Activation Activity and LPS-Induced Acute Inflammation in Mice. Hindawi Publ Corp. 2011;
16. K. Sheeja, P.K. Shihab, G. Kuttan. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of the Plant *Andrographis Paniculata* Nees. Taylor Francis. 2006;28:129–40.
17. Radhika P, Prasad Rajendra Y, Sastry B.S., Rajya Lakshmi K. Anti-inflammatory Activity of Chloroform Extract of *Andrographis Paniculata* Nees Stem. *Res J Biotechnol*. 2009;4:36–7.
18. Jutti Levita, As'ari Nawawi, Abdul Mutalib, Slamet Ibrahim. Andrographolide: A review of its Anti-inflammatory Activity via Inhibition of NF-kappaB Activation from Computational Chemistry Aspects. *Int J Pharmacol*. 2010;5:569–76.
19. Wanwisa Cheunsombat, B.Sc., Ratana Banjerdpongchai, Ph.D., Viboon Rattanapanone, Ph.D., Dararat Punwong, B.Sc. S Prooxidant Effect Of Extract From *Andrographis Paniculata* Nees On Glutathione Levels In Human Erythrocytes. *Chiang Mai Med Bull*. 2005;1:13–9.

LAMPIRAN 1
KAJI ETIK PENELITIAN



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS TANJUNGPURA

FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Prof. Dr. H. Hadari Nawawi Pontianak 78124

Telp (0561) 765342, 583865, 732500 Fax (0561) 765342, 583865, 732500 Kotak Pos 1049

E-mail : kedokteran@untan.ac.id website : http://www.kedokteran.untan.ac.id

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK (*ETHICAL – CLEARANCE*)

No : ~~5898~~ /UN22.9/DT/2015

Divisi Kaji Etik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dalam upaya melindungi kesejahteraan hewan coba subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian berjudul:

Ethical Clearance Division of the Faculty of Medicine University of Tanjungpura, with regards of the animal welfare in medical and health research, has carefully reviewed the proposal entitled:

Uji Efek Antiinflamasi Kombinasi Astaxanthin dan Ekstrak Etanol 70% Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata nees*) Terhadap Hitung Jenis Neutrofil Apus Darah Tepi pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar

Peneliti utama (*Principal Researcher*) : **Desra AUFAR Alwafi**
Nama institusi (*Institution*) : **Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Untan**

dan telah menyetujui protokol penelitian tersebut di atas.
and approved the mentioned proposal.

Pontianak, 21 Desember 2015
Ketua (*Chairman*),

dr. Heru Fajar Trianto, M.Biomed
NIP. 19841013 200912 1 005