

UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL DAUN TAHONGAI (*Kleinhovia hospita* L.) MENGGUNAKAN METODE RAT PAW EDEMA

Indah Solihah¹, Herlina², Oktia Charmila³

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya

ABSTRACT

*The leaves of tahongai (*Kleinhovia hospita* L.) has been traditionally used in Komering tribes as phytotherapy to cure the inflammation related diseases including cancer, furuncles, polyps, tonsilitis and dismenorrhea. Active compound had been isolated from tahongai leaves are astragalin, eleutherol, scopoletin, (Arung et al, 2012), quersetin, rutin, and kaempherol (Ramesh & Subramanian, 1984). Flavonoids had been study have an antiinflammatory effect (Middleton,2000). The aim of this study was evaluate the anti-inflammatory effect of extract against carragenan-induced paw edema volume in rats. The anti-inflammatory study was carried out in 25 male Wistar rats which divided into 5 groups of treatment. Group I and II as negative and positive control given Na CMC 1% and diclofenac sodium respectively, group III, IV and V was given the extract by dosage of 250, 500, dan 750 mg/kgBW respectively. The oral administration of tahongai leaves ethanolic extract in 500 dan 750 mg/kgBW exhibited no significant difference ($p > 0.05$) compared with the positive control which indicated the anti inflammatory activity of extract equals to sodium diclofenac of dose 4,1 mg/kgBW. The effective dose (ED_{50}) was calculated based on the mean of edema inhibition percentage, with a result of 605,04 mg/kgBW.*

Keyword(s) : *Kleinhovia hospita* L., anti inflammatory, rat paw edema

ABSTRAK

Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.) telah banyak digunakan dalam pengobatan tradisional di Indonesia oleh suku Komering, Sumatera Selatan untuk mengobati penyakit yang berhubungan dengan inflamasi, seperti tumor, polip, jerawat, dan nyeri haid. Senyawa aktif yang berhasil diisolasi dari daun tahongai yaitu astragalin, eleutherol, skopoletin, (Arung et al, 2012), kuersetin, rutin, dan kaemferol (Ramesh & Subramanian, 1984). Senyawa flavonoid telah diteliti memiliki aktivitas antiinflamasi (Middleton,2000). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi dari ekstrak etanol daun tahongai secara *in vivo*. Pengujian antiinflamasi dilakukan menggunakan metode *rat paw edema* pada 25 ekor tikus putih jantan galur Wistar yang dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok I sebagai kontrol negatif diberikan Na CMC 1%, kelompok II diberikan Na diklofenak sebagai kontrol positif, kelompok III, IV dan V diberikan ekstrak 250, 500, dan 750 mg/kgBB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun tahongai pada dosis 500 dan 750 mg/kgBB secara oral memiliki aktivitas antiinflamasi yang tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$) terhadap kontrol positif. Dosis efektif (ED_{50}) dihitung berdasarkan persen inhibisi rata-rata edema tikus, didapatkan nilai ED_{50} ekstrak etanol daun tahongai sebesar 605,04 mg/kgBB.

Kata kunci : Tahongai, Antiinflamasi, *rat paw edema*

PENDAHULUAN

Banyak penyakit kronis yang melibatkan proses inflamasi dalam tubuh, seperti tumor, rheumatoid arthritis, asma, diabetes, alergi, penyakit Alzheimer, fibrosis, fibromyalgia, sistemik lupus, psoriasis, dan pankreatitis (Borne *et al.*, 2008). Proses inflamasi atau radang terjadi karena adanya kerusakan sel yang disebabkan oleh mikroba, cedera fisik atau kimia. Respon inflamasi terlihat dengan adanya tanda-tanda seperti bengkak, kemerahan, panas, sakit, dan kehilangan fungsi jaringan (Price & Wilson, 2005).

Pencarian kandidat obat antiinflamasi dari bahan alam terus dikembangkan para peneliti karena banyaknya efek samping yang ditimbulkan oleh obat-obat antiinflamasi yang telah beredar sekarang. Obat antiinflamasi golongan steroid (contoh Dexametason) dan non steroid (contoh Natrium diklofenak) memiliki beberapa

efek samping seperti gangguan gastrointestinal, perdarahan usus (Singh, 1998), dan kerusakan ginjal (Griffin *et al.*, 2000). Penggunaan obat antiinflamasi selektif COX-2 (contoh Celecoxib®) pun terbukti dapat menyebabkan gangguan kardiovaskular bila digunakan dalam jangka panjang (Mukherjee *et al.*, 2001).

Tahongai telah banyak digunakan dalam pengobatan tradisional di Indonesia oleh suku Komering, Sumatera Selatan untuk mengobati penyakit yang berhubungan dengan inflamasi seperti tumor, bisul, polip, amandel, dan nyeri menstruasi. Daun tahongai terbukti memiliki aktivitas antioksidan kuat sebesar 96% terhadap agen radikal bebas DPPH (Arung *et al.*, 2009). Dekokta daun tahongai juga memiliki aktivitas sebagai obat radang hati akut (Raflizar & Sihombing, 2009). (Raflizar, 2009) melaporkan bahwa daun tahongai terbukti aman, tidak menyebabkan toksisitas hati maupun ginjal yang telah

diujikan pada hewan percobaan. Ekstrak etanol 70% daun tahongai dosis 250mg/kgBB dapat mengurangi toksisitas kardiak akut yang disebabkan oleh Doxorubisin (Djabir *et al.*, 2017).

Senyawa aktif yang berhasil diisolasi dari daun tahongai yaitu astragalin, eleutherol (Arung *et al*, 2012), skopoletin, kuersetin, rutin, dan kaemferol (Ramesh & Subramanian, 1984). Kuersetin, rutin, dan kaemferol merupakan senyawa golongan flavonoid. Senyawa flavonoid telah diteliti memiliki aktivitas antiinflamasi. Middleton (2000) melaporkan bahwa mekanisme antiinflamasi senyawa flavonoid melalui penstabilan membran sel sehingga dapat mencegah keluarnya agen inflamasi. Berdasarkan uraian tersebut daun tahongai berpotensi untuk dikembangkan menjadi kandidat obat bahan alam, khususnya sebagai antiinflamasi.

METODELOGI PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan penelitian experimental dan jenis penelitian ini adalah *experimental laboratory post design*.

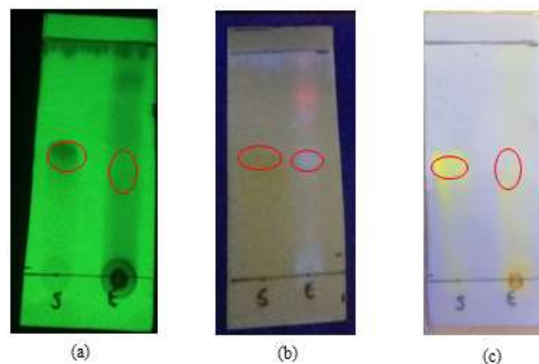
HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Ekstraksi

Ekstraksi sebanyak 1 kg serbuk simplisia daun tahongai (*Kleinhovia hospita* L.) dimaserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 10 L, kemudian direndam selama 48 jam sambil sesekali dilakukan pengadukan. Selanjutnya maserat yang didapat disaring menggunakan corong yang dilapisi kertas saring sehingga didapatkan filtrat kemudian ampas yang didapat diremaserasi kembali sebanyak 2 kali selama 24 jam untuk memaksimalkan penarikan senyawa kimia yang belum tersari pada proses maserasi sebelumnya. Maserasi sampel dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol

70% dikarenakan target senyawa aktif yang diduga berpotensi sebagai antiinflamasi adalah flavonoid glikosida. Filtrat yang didapatkan kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 70°C hingga diperoleh ekstrak kental daun tahongai sebanyak 173,8 g dengan persen rendemen sebesar 17,38%.

Identifikasi kandungan senyawa flavonoid glikosida pada ekstrak daun tahongai secara kualitatif dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase gerak butanol : asam asetat glasial : air dengan perbandingan 4 : 1 : 5 dan diidentifikasi dengan melihat pola bercak di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm (Sarker, 2006).



Gambar 1. Hasil KLT ekstrak dan standar rutin pada UV 254nm (a), UV 366 nm (b) penampak bercak AlCl_3 1% (c).

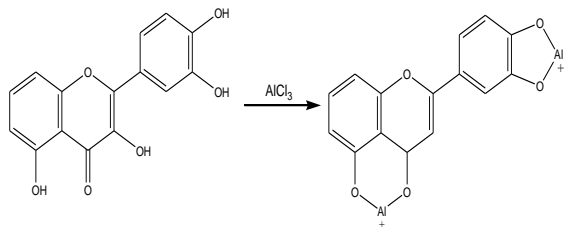
Keterangan:

S = Standar rutin

E = Ekstrak

Hasil identifikasi pada gambar 1 menunjukkan peredaman bercak pada 254 nm dan memberikan fluoresensi biru pada UV 366 nm. Aluminium klorida digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa golongan flavonoid glikosida. Hasil identifikasi menunjukkan bercak kuning yang mengindikasikan adanya golongan senyawa flavonoid glikosida yang dibandingkan dengan standar rutin. Timbulnya warna kuning pada bercak setelah disemprot dengan AlCl_3 1% menunjukkan bahwa terbentuk kompleks antara gugus ortohidroksi

flavonoid dengan AlCl_3 (Horvath et al., 2014) dengan mekanisme reaksi seperti yang tertera pada gambar 2

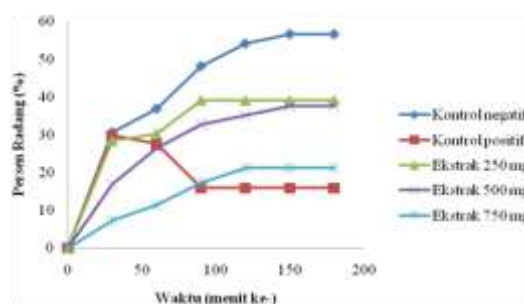


Gambar 2. Reaksi flavonoid dengan AlCl_3 (Horvath et al., 2014)

2. Uji Aktivitas Antiinflamasi

Uji aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun tahongai (*Kleinhovia hospita* L.) dilakukan dengan menggunakan metode rat paw edema yang merupakan metode uji antiinflamasi akut dengan melihat kemampuan zat uji untuk mencegah timbulnya pembengkakan akibat induksi karagenan. Pengujian ini dilakukan dengan menyuntikkan 0,2 ml karagenan 1% secara subplantar (Fridiana, 2012). Karagenan menghasilkan radang secara akut dan tidak menyebabkan kerusakan jaringan. Edema yang disebabkan karagenan akan bertahan selama 6 jam

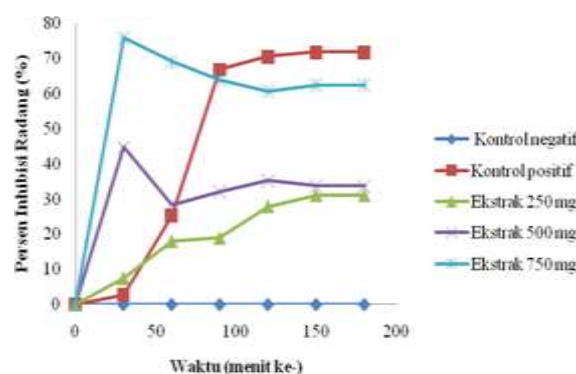
dan berangsur-angsur berkurang selama 24 jam (Corsini et al., 2005). Induksi radang dengan karagenan secara akut terjadi dalam dua fase yang melibatkan beberapa mediator inflamasi. Histamin dan serotonin pada fase pertama, serta prostaglandin pada fase kedua (Necas and Bartosikova, 2013). Karagenan merupakan iritan yang lebih peka terhadap obat antiinflamasi dibanding iritan lain (Juheini, 1990 dalam Lumbanraja, 2009). Pada penelitian ini terdapat 5 kelompok uji yang diberikan perlakuan sesuai dengan yang telah ditentukan. Persen inhibisi radang kaki tikus dihitung berdasarkan volume kaki yang diukur menggunakan alat pletismometer.



Gambar 3. Grafik hubungan persen radang rata-rata kelompok perlakuan

Pada grafik persentase radang kaki tikus wistar jantan kelompok perlakuan pada setiap waktu (Gambar 3), dapat dilihat bahwa kontrol negatif memiliki persen radang tertinggi dibandingkan kelompok lainnya. Hal ini disebabkan karena kontrol negatif hanya diberikan Na CMC saja, tidak diberikan obat ataupun ekstrak yang dapat mencegah timbulnya peradangan. Penurunan persen radang pada kelompok kontrol positif terjadi pada menit ke-60 hingga menit ke-90 dan selanjutnya tidak terjadi penurunan persen radang. Pada ekstrak 250 mg, terlihat persen radang yang terjadi mulai menit ke-30 lebih kecil dari kontrol positif, akan tetapi pada menit selanjutnya persen radang meningkat di atas kontrol positif. Pada dosis ekstrak 500 mg dan 750 mg, persen radang yang terjadi pada menit ke-30 dan 60 lebih kecil dari kontrol positif, akan tetapi pada menit selanjutnya persen radang

terus meningkat di atas kontrol positif. Nilai dari persen radang yang lebih rendah dari kontrol positif ini menunjukkan bahwa ekstrak bekerja lebih baik dalam menghambat pelepasan mediator inflamasi pada 60 menit pertama dibandingkan dengan kontrol positif.



Gambar 4. Grafik hubungan persen inhibisi radang rata-rata kelompok perlakuan

Efek antiinflamasi dari suatu obat atau ekstrak dapat dilihat dari persen inhibisi radang yang dihasilkannya yang dapat dilihat pada Gambar 4. Kelompok kontrol negatif tidak memiliki persen inhibisi radang karena tidak diberikan obat. Persen inhibisi tertinggi pada menit ke-30

terjadi pada kelompok yang diberikan dosis ekstrak 750 mg/kgBB sebesar 75,85% dilanjutkan ekstrak 500 mg/kgBB sebesar 44,72%. Persen inhibisi radang ini lebih tinggi bila dibandingkan dengan kontrol positif pada waktu yang sama. Namun persen inhibisi ekstrak menurun pada menit ke-60 dan selanjutnya, sedangkan kontrol positif mengalami peningkatan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak sudah bekerja maksimal pada menit ke-30 setelah diinduksi karagenan dan mulai menurun aktivitasnya seiring bertambahnya waktu. Aktivitas antiinflamasi ini diperkirakan berkaitan dengan penghambatan pembentukan mediator-mediator inflamasi, baik dari jalur siklooksigenase maupun penghambatan langsung pada fosfolipase A2 (Singh *et al.*, 2008). Senyawa yang diduga berperan dalam menimbulkan efek antiinflamasi dalam ekstrak etanol daun tahongai adalah flavonoid yang

berperan sebagai antiinflamasi melalui penghambatan enzim yang berperan dalam pembentukan mediator inflamasi (Uche and Aprioku, 2008). Glikosida flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun tahongai juga diketahui dapat melemahkan respon inflamasi melalui mekanisme penghambatan produksi tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 (IL-1), dan interleukin-6 (IL-6) melalui inaktivasi NF- κ b (Soromou, 2012). Uji statistik dilakukan dengan menguji normalitas dari data persentase inhibisi radang dengan menggunakan Shapiro-Wilk. Hasil uji normalitas menunjukkan data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Hasil analisis dengan *one way* ANOVA menunjukkan data persen inhibisi radang berbeda signifikan ($p < 0,05$) terhadap semua perlakuan. Analisis dilanjutkan dengan uji Post Hoc Tukey HSD yang menunjukkan bahwa persen inhibisi radang dosis 750 mg/kgBB dan

500 mg/kgBB memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap perlakuan kelompok kontrol negatif, akan tetapi dosis 250 mg/kgBB tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kontrol negatif ($p > 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak pada dosis 750 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB memiliki aktivitas antiinflamasi. Bila dibandingkan dengan kontrol positif, dosis 500 mg/kgBB dan 750 mg/kgBB tidak memiliki perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) yang artinya efek inflamasi pada dosis tersebut setara dengan dosis kontrol positif Na diklofenak 4,1 mg/kgBB.

3. Perhitungan ED₅₀

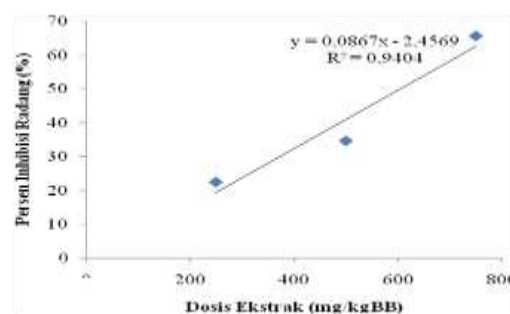
Effective Dose (ED₅₀) merupakan dosis suatu obat yang dapat memberikan efek setara dengan 50% dari efek maksimalnya. Dosis efektif biasanya berhubungan dengan potensi suatu obat dalam menimbulkan efek. Semakin kecil nilai ED₅₀ maka semakin tinggi pula

potensi dari obat tersebut. ED₅₀ dari ekstrak etanol daun tahongai ini dapat dihitung berdasarkan regresi linier dari dosis ekstrak dengan persen inhibisi radang.

Tabel 1. Persen inhibisi rata-rata ekstrak etanol daun tahongai

Dosis Ekstrak (mg/kgBB)	Persen Inhibisi radang (%)
250	22,375
500	34,598
750	65,734

Hasil regresi linier antara dosis dan persen inhibisi dapat dilihat pada gambar 5. Persamaan regresi linier yang diperoleh adalah $y = 0,0867x - 2,4569$ dengan nilai R² sebesar 0.9404. Dari persamaan yang diperoleh, didapat bahwa ED₅₀ ekstrak etanol daun tahongai sebesar 605,04 mg/kgBB.



Gambar 5. Grafik regresi linier antara dosis (mg/kgBB) dan persen inhibisi

radang (%) ekstrak etanol daun tahongai

tahongai (*Kleinhovia hospita* L.)

sebesar 605,04 mg/kgBB.

Dosis efektif ekstrak etanol daun tahongai yang didapat ini kurang poten jika dibandingkan dengan dosis obat antiinflamasi sintesis Na diklofenak sebesar 25 – 50 mg/kgBB. Dosis yang besar ini kemungkinan disebabkan karena masih terdapat banyak senyawa *ballast* yang terkandung di dalam ekstrak yang tidak memiliki aktivitas antiinflamasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil data dan pembahasan yang telah dipaparkan, maka ada beberapa kesimpulan yang dapat diambil dalam penelitian ini yakni:

1. Ekstrak etanol daun tahongai (*Kleinhovia hospita* L.) memiliki rendemen 17, 38% dan secara kualitatif positif mengandung rutin.
2. Dosis efektif (ED₅₀) antiinflamasi dari ekstrak etanol daun

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh dana PNBPU Universitas Sriwijaya dengan no.SK Rektor 0568/UN9/PP/2017.

DAFTAR PUSTAKA

Arung, Enos Tangke; Kusuwa, Irawan Wijaya; Kim, Yong-un; Shimizu, Kuniyoshi; Kondo, R. (2012). Antioxidative compounds from leaves of Tahongai (*Kleinhovia hospita*). *Journal of Wood Science*, 58(1), 77–80.

Arung, E. T., Kusuma, I. W., Purwatiningsih, S., Roh, S. S., Yang, C. H., Jeon, S., ... Kondo, R. (2009). Antioxidant Activity and Cytotoxicity of the Traditional Indonesian Medicine Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.) Extract. *JAMS Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 2(4), 306–308. [https://doi.org/10.1016/S2005-2901\(09\)60073-X](https://doi.org/10.1016/S2005-2901(09)60073-X)

- Borne, R., Revi, M. and Wilson, N., (2008). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs dalam Lemke, T.L., Williams, D.A., Roche, V.F., and Jito, S.W., (Eds.). Foye's principles of medicinal chemistry 6th Ed., 2-5, William & Wilkins, Philadelphia, USA.
- Corsini, E., Paola, R. D., Viviani, B., Genovese, T., Mazzon, E., Lucchi, L., et al. 2005, *Increased carragenan-induced acute lung inflammation in old rats, Immunology*, **115(2)**:253–261.
- Djabir Y.Y., Arsyad M.A., Sartini S., Lallo S. (2017). Potential roles of *Kleinhovia hospita* L.leaf extract in reducing doxorubicin acute hepatic, cardiac, and renal toxicities in rats. *Phcog Res*, 9:168-173.
- Fridiana, D. (2012). 'Uji antiinflamasi ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus* L) pada kaki tikus wistar jantan yang diinduksi karagen. Skripsi, S.Kg., Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Jawa Timur, Indonesia.
- Horvath, G., Molnar, P.& Bencsik, T. 2014, *Chapter 13:Drugs containing flavonoid*, diakses tanggal 29 Mei 2017,<http://www.tankonytar.hu/en/tartalom/tamop412A/2011-0016_08_pharmacognosy_2/ch13.html>
- Juheini, F.W., Mariana, Y.& Rusmawan, I. 1990, Efek antiinflamasi jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) terhadap radang buatan pada tikus putih,*Majalah Farmakologi dan Terapi Indonesia*, **7(1)**: 9 – 13.
- Middleton, E.JR., Kandaswami, C., and Theoharides, T. C. (2000). The Effect of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 52(4): 673-751.
- Mukherjee, D., Nissen, S.E., Topol, E.J. (2001). Risk of cardiovascular event associated with selective COX-2 inhibitors. *JAMA*, 286(8):954-959.
- Necas, J. & Bartosikova, L. 2013, Carragenan: A Review,*Veterinarni Medicina*, **58**:187 – 205.

- Price, S.A. and Wilson, L.M. (2005). Patofisiologi: Konsep klinis proses-proses penyakit, Edisi 4, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, Indonesia.
- Raflizar. (2009). Sub Chronic Toxicity test from alcohol extract paliasa leaves (*Kleinhovia Hospita Linn*) to hepar/Liver and Kidney of Experimental mice. *Media Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*, 19(4), 204–212.
- Raflizar, D., & Sihombing, M. (2009). Paliasa Leaves (*Kleinhovia hospita Linn*) Extract For Treatment of Acute Hepatitis. *Ekologi Kesehatan*, 8(2), 984–993.
- Ramesh P, Subramanian S. (1984). Flavonoids of *Kleinhovia hospital*. *Med Educ Res*, 10:76–77
- Sarker, S.D. & Nahar, L. 2009, *Kimia untuk mahasiswa farmasi bahan kimia organik, alam, dan umum*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, Indonesia.
- Singh G. (1998). Recent considerations in nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy. *Am J Med*, 105(1B):31S-8.