

## EFEK ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOLIK HERBA ALFALFA (*Medicago sativa* L.) PADA TIKUS JANTAN YANG DIINDUKSI KARAGENIN BESERTA IDENTIFIKASI KANDUNGAN SENYAWA AKTIFNYA

Sri Susilowati dan Yuniarti Rosyidah  
Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang

### ABSTRACT

Alfalfa plant (*Medicago sativa* L.) contains of flavonoids compound, it has already known. One of the effects of flavonoids is anti-inflammatory effect of alfalfa herb (*M. sativa* L.). The purpose of this research to know about anti-inflammatory effect of alfalfa herb ethanolic extract on carrageenan induced male rats and also to know the content of its active compound.

Thirty male wistar rats were randomly divided into 5 group of 6. Group I, negative control, were treated CMC-Na 0,5 %, group II, positive control, were treated natrium diclofenac 6,3 mg/ kg BB. Group III, IV and V were treated ethanolic extract of alfalfa herb orally dose 45 mg/ kg BW, 90 mg/ kg BW and 180 mg/ kg BW. Anti-inflammatory effect were measured of edema feet were done every 30 minutes for 6 hours using *plestismometer*. After edema feet data vs time got, then we can get AUC<sub>0-360</sub> value and percentase anti-inflammatory effect. Statistic analytical used one way ANOVA ( $p < 0,05$ ) and continued with Tukey test then. Identification of active compound of alfalfa herb ethanolic extract was used Thin Layer Chromatography (TLC).

The result of the research shown that ethanolic extract of alfalfa herb by dosage 45 mg/ kg BW, 90 mg/ kg BW and 180 mg/ kg BW could reduce edema in carrageenan induced rats, significantly. The percentase of anti-inflammatory effect on dosage of 45 mg/ kg BW is 58,99 %, on 90 mg/ kg BW is 72,64 % and on 180 mg/ kg BW is 64,23 %. TLC result shown that active compound the ethanolic extract of alfalfa herbs was flavonoids. We could be concluded that ethanolic extract of alfalfa herb have anti-inflammatory effect.

**Key word** : ethanolic extract of alfalfa herb (*Medicago sativa* L.), flavonoids, anti-inflammatory.

### PENDAHULUAN

Inflamasi atau proses peradangan merupakan respon imun tubuh terhadap stimulus eksogen dan endogen. Inflamasi merupakan pertahanan terakhir suatu respon perlindungan untuk mempertahankan homeostasis di bawah pengaruh lingkungan yang merugikan yang disebabkan sel luka dan akibat cedera (Bellanti, 1993). Prevalensi inflamasi seperti yang dilaporkan oleh Bagian Rematologi RSCM Jakarta sebesar 56,70 %. Prevalensi ini meningkat seiring dengan peningkatan kasus inflamasi yang terjadi (Dharmawirya, 2000). Ciri utama inflamasi adalah kemerahan, pembengkakan, panas, dan nyeri (Laksminingsih, 2004). Pada proses inflamasi dilepaskan prostaglandin sebagai salah satu mediator nyeri. Prostaglandin merupakan hasil akhir metabolisme asam arakhidonat melalui jalur siklooksigenase (Isbagio, 2006).

Pemanfaatan tanaman sebagai obat sudah dilakukan sejak dahulu oleh bangsa Indonesia yang merupakan warisan nenek moyang dan digunakan secara turun temurun. Masyarakat menganggap bahwa obat alami lebih aman digunakan, memiliki efek samping lebih sedikit dan terjangkau. Masyarakat menggunakan obat tradisional sebagai alternatif disebabkan oleh kegagalan dalam terapi dengan obat modern pada penyakit – penyakit tertentu. Badan dunia di bidang kesehatan (*World Health Organization*), pada saat ini telah menganggap bahwa obat yang berasal dari tanaman

sangat penting perannya dalam upaya peningkatan kesehatan masyarakat. Diperkirakan hampir 80 % penduduk dunia menggantungkan pengobatannya pada pengobatan tradisional (Djarmiko, 2001). Salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai obat adalah alfalfa (*Medicago sativa* L.) yang termasuk dalam famili Fabaceae.

Alfalfa secara empiris dapat digunakan, antara lain untuk antikoolesterol, antifungi, antispasmodik, antitrombotik, diuretik, antihiperlipemik, antiinflamasi, dan antikanker (Newal, dkk, 1996). Zat yang terkandung dalam tanaman alfalfa antara lain asam – asam organik, alkaloid, flavonoid, saponin, vitamin, dan mineral (Moore, 1996).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antiinflamasi ekstrak etanolik herba alfalfa dan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dari ekstrak etanolik herba alfalfa tersebut.

### METODOLOGI

#### Subyek uji

Tikus putih jantan galur wistar umur 2 – 3 bulan dengan berat badan 200 – 300 gram, jumlah 30 ekor.

#### Bahan

Tanaman alfalfa (Tlatar Boyolali), natrium diklofenak (PT. Phapros, Semarang), selulosa (Lab. Penelitian dan Pengujian Terpadu UGM, Yogyakarta), etil asetat (pa), asam formiat (pa), asam asetat (pa), air, ammonia (Lab.

Penelitian dan Pengujian Terpadu UGM, Yogyakarta), NaCl 0,9 % (PT. Widratama, Surabaya), karagenin (Lab. Farmakologi Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta), CMC Na (Lab. Farmakologi Fakultas Farmasi UWH, Semarang), dan etanol 70 % (Lab. Farmakologi Fakultas Farmasi UWH, Semarang).

#### Alat

Alat-alat gelas, corong, cawan petri, plestismometer, spuit injeksi, jarum tumpul po, jarum iv, stirer, timbangan hewan (Iwake), timbangan elektrik (Ohaus), lempeng KLT, chamber, lampu UV 254 nm, dan lampu UV 365 nm.

#### Cara penelitian

Penelitian ini diawali dengan pembuatan ekstrak etanolik herba alfalfa menggunakan cara maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%. Ekstrak etanolik herba alfalfa yang diperoleh berupa ekstrak kental sebesar 19,11 gram dengan rendemen 19,11%.

Penelitian ini dilakukan dengan membagi hewan uji menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Kelompok I, kelompok kontrol negatif, diberi CMC Na 0,5 %. Kelompok II, kelompok kontrol positif, diberi Natrium diklofenak dosis 6,3 mg/kg BB. Kelompok III, IV, dan V masing-masing mendapat perlakuan ekstrak etanolik herba alfalfa dosis 45 mg/kg BB, 90 mg/kg BB, dan 180 mg/kg BB. Semua pemberian secara per oral. Tiga puluh menit setelah perlakuan, seluruh hewan uji diinduksi karagenin 1% sebanyak 0,1 ml pada bagian plantar secara intra muscular (Vogel, 2002). Pengukuran volume udem dilakukan tiap 30 menit selama 6 jam menggunakan alat plestismometer.

Data yang diperoleh berupa volume udem kaki tikus dari menit ke 0 sampai menit ke 360 selanjutnya dibuat kurva hubungan volume udem terhadap waktu, hingga dapat diketahui nilai  $AUC_{0-360}$  dari masing-masing tikus. Dari data AUC dapat ditentukan persentase daya antiinflamasi dari masing-masing kelompok perlakuan dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ daya antiinflamasi} = \frac{AUC_k - AUC_p}{AUC_k} \times 100\%$$

Keterangan :

$AUC_k$  = nilai rata-rata AUC dari kelompok kontrol negatif

$AUC_p$  = nilai rata-rata AUC dari kelompok perlakuan

Analisis statistik terhadap data AUC digunakan ANAVA satu arah dengan taraf kepercayaan 95 % yang dilanjutkan dengan uji Tukey.

Identifikasi terhadap kandungan senyawa aktif ekstrak etanolik alfalfa digunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Fase diam yang digunakan adalah selulose, sedangkan fase gerak yang digunakan adalah etil asetat, asam formiat, asam asetat dan air dengan perbandingan 100 : 11 : 11 : 27 (Wagner, 1984). Penampak bercak

digunakan pereaksi semprot ammonia serta dilihat di bawah sinar UV 254 nm dan 365 nm.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian yang bersifat eksploratif ini dilakukan untuk membuktikan adanya efek antiinflamasi dari ekstrak etanolik herba alfalfa (*M. sativa*, L). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Laksmonowati (2005) kandungan utama dari ekstrak etanolik herba alfalfa adalah flavonoid. Flavonoid diketahui mampu menghambat asam arakhidonat yang akan memproduksi prostaglandin sehingga berkhasiat sebagai antiinflamasi (Winarsi, 2005).

Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan volume udem dari kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol negatif yang dibuktikan dengan adanya penurunan nilai  $AUC_{0-360}$  (Tabel I, Gambar 1). Penurunan nilai  $AUC_{0-360}$  dari kelompok perlakuan ekstrak etanolik herba alfalfa terhadap kontrol negatif menunjukkan kebermaknaan secara statistik ( $p < 0,05$ ). Hal ini memberi bukti ilmiah bahwa ekstrak etanolik herba alfalfa memiliki efek antiinflamasi.

**Tabel 1.  $AUC_{0-360}$  dan Persentase Daya Antiinflamasi Tanpa dan dengan Perlakuan Ekstrak Etanolik Herba Alfalfa**

Kelompok	$AUC_{0-360}$ rerata $\pm$ SE	Daya Antiinflamasi (%) $\pm$ SE
I	43,13 $\pm$ 7,38	-
II	36,11 $\pm$ 3,13	16,27 $\pm$ 7,26
III	17,78 $\pm$ 2,74*	58,78 $\pm$ 6,36*
IV	11,80 $\pm$ 2,85*	72,64 $\pm$ 6,61*
V	15,43 $\pm$ 1,46*	64,23 $\pm$ 3,38*

Keterangan:

\* signifikan terhadap kelompok I (kontrol negatif).

Kelompok I : Kontrol negatif (CMC Na 0,5%)

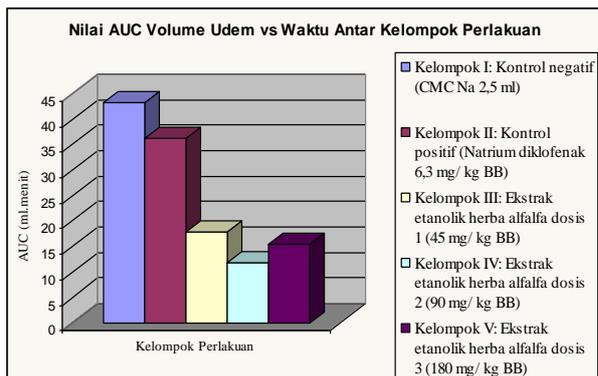
Kelompok II : Kontrol positif (Natrium diklofenak 6,3 mg/kg BB)

Kelompok III : Ekstrak etanolik herba alfalfa dosis I (45 mg/kg BB)

Kelompok IV : Ekstrak etanolik herba alfalfa dosis II (90 mg/kg BB)

Kelompok V : Ekstrak etanolik herba alfalfa dosis III (180 mg/kg BB)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai persentase daya antiinflamasi ekstrak etanolik herba alfalfa lebih tinggi daripada Na diclofenak sebagai kontrol positif (Tabel. I). Namun demikian belum dapat dipastikan bahwa ekstrak etanolik herba alfalfa memiliki efek antiinflamasi yang lebih besar daripada Na diclofenak. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya kebermaknaan dari nilai  $AUC_{0-360}$  ataupun persentase daya antiinflamasi dari kelompok Na diclofenak terhadap kontrol negatif, padahal Na diclofenak



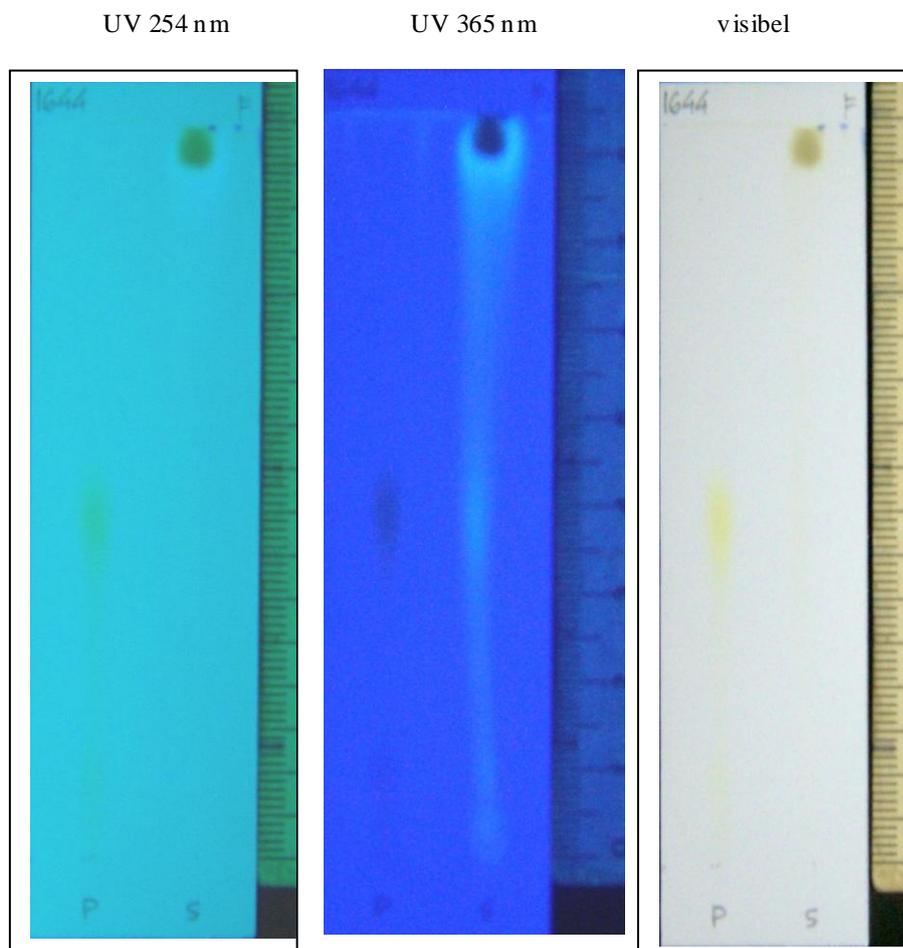
**Gambar I.** AUC<sub>0-360</sub> volume udem terhadap waktu antar kelompok perlakuan

merupakan obat antiinflamasi yang sudah terbukti efektivitasnya. Kemungkinan hal ini disebabkan karena perbedaan variasi biologis pada masing-masing hewan uji sehingga memberikan hasil demikian.

Kenaikan dosis ekstrak etanolik herba alfalfa ternyata tidak diikuti dengan kenaikan persentase daya antiinflamasi. Persentase daya antiinflamasi paling besar terjadi pada pemberian ekstrak etanolik herba alfalfa dosis 90 mg/kg BB yaitu sebesar 72,64% (Tabel. I). Pemberian ekstrak etanolik herba alfalfa dosis 180 mg/kg BB justru menurunkan daya antiinflamasi menjadi 64,23% (Tabel. I). Hal ini biasa terjadi pada

aktivitas obat-obat dalam bentuk ekstrak, dimana efek yang dihasilkan tidak sesuai dengan kenaikan dosis sebab kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak sangat beragam sehingga akan saling berkompetisi satu dengan yang lainnya. Analisa statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna dari nilai AUC<sub>0-360</sub> ataupun persentase daya antiinflamasi antara ketiga dosis ekstrak etanolik herba alfalfa tersebut. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa rentang dosis yang digunakan dalam percobaan masih terlalu dekat sehingga memberikan efek yang hampir sama.

Identifikasi terhadap kandungan senyawa aktif ekstrak etanolik alfalfa dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) lebih diarahkan kepada adanya senyawa flavonoid. Oleh karena itu fase diam yang digunakan dalam penelitian ini adalah selulosa karena proses pemisahan yang digunakan menggunakan prinsip partisi (Mulya, 1995). Flavonoid yang akan diteliti bersifat polar atau hidrofilik sehingga fase gerak yang digunakan bersifat polar. Fase gerak yang digunakan dalam KLT pada penelitian ini adalah etil asetat, asam formiat, asam asetat, dan air dengan perbandingan 100 : 11 : 11 : 27 (Wagner, 1984), sedangkan pereaksi semprot yang digunakan adalah ammonia karena ammonia adalah pereaksi yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi flavonoid dengan metode KLT. Perbandingan yang digunakan adalah rutin (flavonoid).



**Gambar II.** Hasil kromatografi lapis tipis

Keterangan : P = Pembandingan rutin, S = Sampel ekstrak etanolik herba alfalfa

Dari hasil kromatografi lapis tipis ini dapat diketahui bahwa ekstrak etanolik herba alfalfa mengandung flavonoid, dengan nilai R<sub>f</sub> sampel 0,47. Hal ini menguatkan hasil penelitian atau membuktikan kebenaran laporan dari Laksmonowati (2005) dan Winarsi (2005) bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanolik herba alfalfa adalah flavonoid dan senyawa flavonoid tersebut mampu menghambat asam arakhidonat yang akan memproduksi prostaglandin sehingga berkhasiat sebagai antiinflamasi.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Ekstrak etanolik herba alfalfa (*M. sativa* L.) mempunyai efek antiinflamasi dengan persentase daya antiinflamasi sebesar 58,78 % untuk dosis 45 mg/ kg BB, 72,64 % untuk dosis 90 mg/ kg BB, dan 64,23 % untuk dosis 180 mg/ kg BB. Senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanolik herba alfalfa yang berperan sebagai antiinflamasi adalah flavonoid.

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui efek farmakologis lain dari tanaman alfalfa (*M. sativa* L.) dan jenis flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak etanolik herba alfalfa.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bellanti, J.A., 1993, *Imunologi*, edisi III, diterjemahkan oleh Wahab, A.S., Gadjah Mada University Press, Yogyakarta: 223 – 232.
- Dharmawirya, Mitzzy, Dr., 2000, *Efek Akunpunter pada Osteoarthritis Lutut*, diakses dari: <http://www.rscm.com>, tanggal 12 Agustus 2007.
- Djarmiko, 2001, Prospek Pengobatan Alternatif Khusus Obat Tradisional Di Masa Yang Akan Datang, *Kuliah Perdana Mahasiswa Baru*, Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim, Semarang.
- Isbagio, H., 2006, *Peran Obat Antiinflamasi Non Steroid terhadap Nyeri dan Inflamasi pada Penyakit Rheumatik*, diakses dari: <http://www.kalbefarma.com>, tanggal 2 Desember 2006.
- Laksminingsih, R., 2004, *Pemilihan NSAID untuk Berbagai Situasi Klinik*, diakses dari <http://www.pabmi.com>, tanggal 2 Desember 2006
- Laksmonowati, E., 2005, Uji Efek Antidiabetik Ekstrak Etanolik Daun dan Batang Alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Dibeberatkan Glukosa dan Identifikasi Senyawa Aktifnya, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang
- Moore, M., 1996, *Alfalfa (Medicago sativa L.) The Miracle of its Science*, diakses dari: <http://www.purilife.com>, tanggal 2 Desember 2006.
- Newal, C.A., Anderson, L.A., and Phillips, J.D., 1996, *Herbal Medicine A Guide for Health Care Professionals*, Pharmaceutical Press, London: 23 – 24.
- Vogel, G., 2002, *Drug Discovery and Evaluation Pharmacological Assay*, Second Ed., Springer, Berlin: 750 – 755.
- Wagner, H., 1984, *Plant Drug Analysis a Thin Layer Chromatography Atlas*, Springer, Verlag: 164.
- Winarsi, H., 2005, *Isoflavon*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 50,81, 106