

EFEK ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL 70% KULIT BUAH POMELO (*Citrus maxima* (Burm.) Merr) PADA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR BERDASARKAN DOSIS PEMEJANAN

Putu Dian Marani Kurnianta^{1,*}, Anak Agung Ngurah Putra Riana Prasetya², Elisabeth Oriana Jawa La¹, I Gede Krisna Yudiarta¹

¹Program Studi Farmasi Program Diploma 3 Sekolah Tinggi Farmasi Mahaganesha,

²Program Studi Farmasi Program Sarjana Sekolah Tinggi Farmasi Mahaganesha

*Korespondensi: putudian.mk@farmasimahaganesha.ac.id

ABSTRAK

Abstrak:

Beberapa penelitian menunjukkan hasil positif terkait efek antiinflamasi ekstrak kulit buah pomelo pada model hewan uji, namun pengamatan efek berdasarkan perbedaan dosis masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efek antiinflamasi dari beberapa dosis pemejanaan ekstrak etanol kulit buah pomelo atau *Citrus maxima* (Burm.) Merr. pada tikus putih jantan galur Wistar dengan metode *carrageenan-induced hind paw edema*. Volume edema berbeda secara signifikan antara kelompok ekstrak dengan kontrol negatif CMC-Na pada menit ke-120 ($p=0,013$). Penghambatan inflamasi terendah hingga tertinggi ditimbulkan oleh ekstrak dosis 100, 400, dan 200 mg/kg secara berturut-turut. Jadi, efek antiinflamasi berdasarkan perbedaan dosis pada penelitian ini bersifat non-linear.

Abstract:

Several studies have shown positive results regarding the anti-inflammatory effects of pomelo peels extracts in animal models, but observation towards the effects based on different doses is still limited. This study aimed to compare the anti-inflammatory effects addressing several doses of ethanolic extract of pomelo or Citrus maxima (Burm.) Merr. peels in Wistar strain of male albino rats under carrageenan-induced hind paw edema method. There were significant differences in edema volume between the extract groups and negative control CMC-Na at 120 minutes ($p=0.013$). The lowest to highest inflammation inhibition values were elicited by the extract at doses of 100, 400 and 200 mg/kg, respectively. Therefore, this study indicated a non-linearity between anti-inflammatory effect and the experimented doses.

A. LATAR BELAKANG

Jeruk bali atau pomelo mewakili salah satu dari jenis jeruk dan buah-buahan populer lainnya di Indonesia. Pomelo dengan nama spesies *Citrus maxima* (Burm.) Merr. merupakan tanaman keluarga *Rutaceae* yang asli dari Asia, khususnya Asia Tenggara seperti Indonesia [1,2]. Daging buah pomelo dapat dimakan, mudah dilepaskan dari kulitnya, dan berasa khas *citrus* yang menyegarkan, sehingga disukai oleh kebanyakan orang [1,3]. Produksi pomelo untuk komersialisasi di Indonesia selalu meningkat dalam rentang tahun 2018-2020, yaitu dari 102 ton hingga hampir 130 ton tiap tahunnya [4]. Peningkatan produksi ini dapat dipicu pula oleh konsumsi pomelo dan jeruk lainnya oleh masyarakat Indonesia yang menempati posisi tertinggi kedua setelah buah pisang pada tahun 2022 lalu [5]. Namun demikian, pemenuhan kebutuhan populasi terhadap buah pomelo yang terus bertambah juga dapat meningkatkan kuantitas limbah kulit buah pomelo.

Untuk menekan limbah yang terbuang sia-sia atau bahkan mencemari lingkungan, maka kulit buah pomelo perlu dimanfaatkan sesuai potensinya. Tuntutan perkembangan teknologi agrikultur dapat dikolaborasikan dengan teknologi kesehatan, sehingga limbah panen tanaman seperti kulit buah pomelo dapat dikembangkan menjadi produk senyawa bioaktif dengan nilai yang lebih tinggi [6]. Kulit buah pomelo sebetulnya sudah dimanfaatkan secara empiris untuk memperbaiki kondisi batuk, bengkak, ulkus, epilepsi, hipertensi, dan obesitas [2]. Bioaktivitas tersebut dapat

bersumber dari senyawa-senyawa kandungan kulit buah pomelo, seperti flavonoid, aglikon glikosida, vitamin C, karotenoid, kumarin, asam fenolat, pektin, komponen atsiri terpenoid, dan polisakarida [3,7]. Potensi pemanfaatan kekayaan kandungan pomelo tersebut perlu diteliti secara lebih spesifik pada kondisi permasalahan kesehatan yang strategis.

Inflamasi dapat menjadi salah satu sasaran penting dalam penelitian terkait pemanfaatan kulit buah pomelo. Pada dasarnya, inflamasi merupakan respon perlindungan dari sistem imun tubuh terhadap bahaya, karena luka, infeksi, toksin, atau stres [8]. Namun demikian, pada keberadaan faktor-faktor tertentu, ketidakberhasilan resolusi inflamasi akut ternyata dapat beralih menjadi respon inflamasi jangka panjang yang merusak toleransi sistem imun. Sebagai akibat dari patogenesis tersebut, perubahan pada anatomi dan fisiologi kemudian berakhir pada peningkatan risiko penyakit tidak menular (PTM) [9]. Beberapa PTM utama, seperti penyakit kardiovaskuler, diabetes, dan kanker menjadi perhatian darurat, karena telah menyumbang terhadap hampir 75% dari angka mortalitas di seluruh dunia selama tahun 2019 [10]. Proyeksi patogenesis inflamasi pada situasi epidemiologi tersebut membutuhkan pergerakan dalam penelitian farmakologi terhadap bioaktivitas kandungan kulit buah pomelo yang tidak hanya terbatas pada kajian manfaat empiris.

Sejauh ini, beberapa penelitian *in vivo* pada model hewan uji telah dilakukan dengan menggunakan ekstrak

kulit buah pomelo. Mencit jantan galur Swiss yang dipejarkan ekstrak metanol dosis 500 mg/kg dari Bangladesh memiliki perbedaan ukuran edema yang signifikan dibandingkan kontrol negatifnya pada jam kedua pengamatan [11]. Hasil serupa pada penelitian di India juga terjadi akibat ekstrak etanol dengan dosis yang sama pada tikus galur Wistar [12]. Hasil tersebut memberikan gambaran positif terkait pengembangan manfaat pemberian efek antiinflamasi kulit buah pomelo. Walaupun demikian, aspek pengaruh perbedaan dosis pemejangan belum dilakukan pada kedua penelitian sebelumnya. Selain itu, perbedaan kandungan ekstrak dari tumbuhan yang sama dapat dipengaruhi oleh masing-masing kondisi pada lokasi geografis yang berbeda [13]. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efek antiinflamasi dari beberapa dosis pemejangan ekstrak etanol kulit buah pomelo di Bali pada tikus putih jantan galur Wistar.

B. METODE PENELITIAN

Preparasi ekstrak dan sampel hewan uji

Ekstrak dan hewan uji diperoleh dari Laboratorium Kimia dan Laboratorium Farmakologi Sekolah Tinggi Farmasi Mahaganesha. Ekstrak berasal dari kulit buah pomelo di Desa Ringdikit, Kecamatan Seririt, Kabupaten Buleleng. Simplisia telah dideterminasi sebagai bagian dari tumbuhan *jeruk bali*, yaitu spesies *Citrus maxima* (Burm.) Merr. oleh Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya "Eka Karya" Bali-LIPI sesuai keterangan nomor B-1118/IPH.7/AP/XII/2019. Simplisia kering dari kulit buah pomelo bagian luar dimaserasi selama 5 hari dengan etanol 70%, kemudian disaring dan dievaporasi hingga menjadi ekstrak kental. Pada ekstrak tersebut dilakukan skrining fitokimia secara kualitatif

sesuai metode pengujian kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, dan glikosida [14,15].

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar dengan berat ± 200 g yang berusia ± 3 bulan. Aklimatisasi dilakukan selama 1 minggu, dan tikus dipuaskan selama ± 24 jam menuju prosedur uji antiinflamasi. Berdasarkan rumus Federer [16], yaitu $(t-1)(r-1) \geq 15$, (t banyak perlakuan; r banyak ulangan), sebanyak 5 ekor tikus diperlukan pada masing-masing kelompok dari total 5 kelompok. Tikus dipilih secara acak untuk dimasukkan dalam tiap-tiap kelompok. Perhitungan dosis pemberian ekstrak maupun obat pembanding pada masing-masing kelompok berdasarkan rumus konversi dosis ekuivalensi hewan uji tikus [17]. Penentuan dosis perlakuan ekstrak dalam tiga dosis berbeda menggunakan pendekatan $\frac{1}{2}$ dosis, 1 dosis, dan 2 dosis dari hasil konversi dosis perlakuan 300 dan 500 mg/kg pada studi dengan mencit dan ekstrak metanol [11].

Prosedur uji

Uji antiinflamasi dilaksanakan secara eksperimental laboratorium pada bulan Juni-Agustus 2020. Kelompok uji meliputi kelompok kontrol positif (natrium diklofenak 9 mg/kg), kontrol negatif (CMC-Na 1% b/v, 5 ml/kg), dan tiga kelompok ekstrak kulit buah pomelo (100, 200, 400 mg/kg), sehingga skema uji ini mengikuti model *pre-test-post-test control group design* [16]. Uji antiinflamasi menggunakan *carrageenan-induced hind paw edema method* oleh Winter. Edema akut diinduksi secara intraplantar dengan 0,2 ml karagenan 1% b/v dalam natrium klorida steril 0,9% pada salah satu kaki belakang tikus seluruh kelompok uji. Suspensi kontrol positif, kontrol negatif, dan ekstrak kulit buah pomelo dipejarkan per oral 0,5 jam setelah injeksi karagenan. Volume kaki belakang tikus semua kelompok diukur secara konsisten pada menit ke-0, 30, 60, 90,

dan 120 dengan menggunakan pletismometer [12].

Analisa data

Pencatatan hasil pengukuran dituangkan dalam bentuk tabel data dan grafik. Volume edema kaki tikus dibandingkan secara statistik antara kelompok perlakuan dan kontrol berdasarkan tiap titik waktu pengamatan. Normalitas data diuji dengan *Saphiro-Wilk* ($n < 100$). Pada data antar kelompok yang terdistribusi normal, uji *One-Way ANOVA* diterapkan. Sebaliknya, data antar kelompok yang tidak terdistribusi normal diuji secara *Kruskal-Wallis*. Uji *post-hoc* dilakukan apabila

relevan. Signifikansi perbedaan mengikuti taraf kepercayaan 95% [18]. Data grafik menampilkan perubahan volume kaki tikus ketika induksi karagenan atau sebelum perlakuan dan perubahan volume edema setelah perlakuan. Selain itu, perubahan volume edema setelah perlakuan juga dihitung sebagai % penghambatan inflamasi dengan rumus $(1 - V_t/V_c) \times 100$. V_t mewakili volume edema kelompok perlakuan ekstrak atau kontrol positif, sedangkan V_t mewakili volume edema kelompok kontrol negatif pada waktu tertentu [12]. Interpretasi data pada grafik dilakukan secara deskriptif komparatif.

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Penelitian

Ekstrak kulit buah pomelo yang digunakan dalam penelitian ini teruji mengandung semua komponen metabolit sekunder yang direaksikan, namun hasil negatif ditunjukkan pada pereaksi saponin (Tabel 1). Tabel 2 menampilkan karakteristik pengujian dan hasil pengukuran volume edema pada tiap-tiap kelompok hewan uji berdasarkan waktu pengamatan. Secara umum, kondisi awal hewan uji yang digunakan masih dalam rentang karakteristik yang serupa dengan berat badan seragam antara 186,00-191,60 gram. Volume edema permulaan rata-rata pada seluruh kelompok bernilai sama rata tanpa perbedaan signifikan ($p > 0,05$). Seluruh kelompok juga mengalami kenaikan sekitar 2-3 kali volume edema awal secara seragam ($p > 0,05$) selama 0,5 jam setelah diberikan karagenan. Setelah pemberian obat pembanding natrium diklofenak serta ekstrak kulit buah pomelo pada ketiga dosis, tendensi penurunan volume edema mulai terlihat sejak menit ke-60, namun perbedaan signifikan antar

kelompok hanya ditemukan pada menit ke-120 ($p < 0,05$) (Gambar 1, Tabel 2).

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol kulit buah pomelo

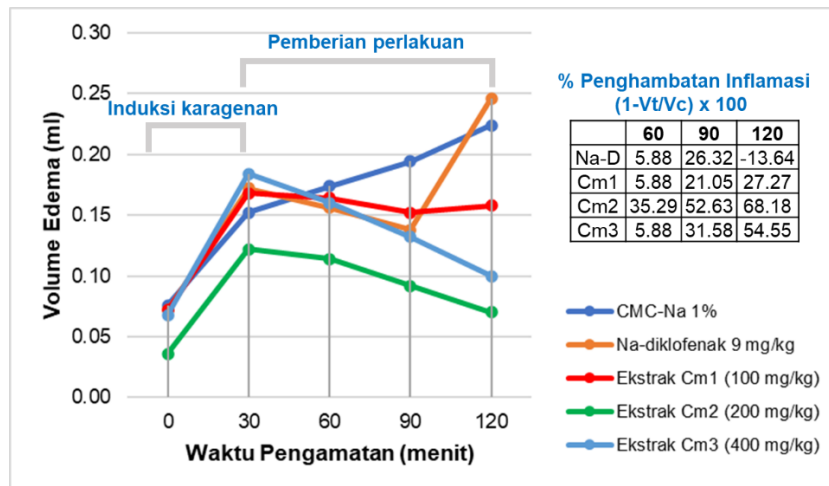
Identifikasi Senyawa (Metode) [14,15]	Hasil Uji Kualitatif
Alkaloid (Mayer's, Dragendorf)	Ada
Flavonoid (Shinado's)	Ada
Saponin (Busa)	Tidak ada
Tanin (FeCl ₃)	Ada
Triterpenoid (Salkowksi's + H ₂ SO ₄)	Ada
Glikosida (FeCl ₃ + H ₂ SO ₄)	Ada

Ilustrasi perubahan volume edema pada kaki tikus tiap waktu kelima kelompok disajikan pada Gambar 1. Pola penghambatan edema pada waktu pengamatan setelah pemberian obat pembanding dan ekstrak perlakuan cenderung meningkat seiring berjalannya waktu (menit 60-120) pada masing-masing kelompok. Akan tetapi, edema kelompok kontrol natrium diklofenak dan perlakuan ekstrak dosis terendah kembali meningkat pada titik waktu pengamatan terakhir.

Penghambatan tertinggi dihasilkan pada menit ke-120 oleh dosis ekstrak kulit buah pomelo dosis 200 mg/kg yang mencapai lebih dari 60% dibandingkan kontrol larutan pembawa CMC-Na. Berdasarkan tiap dosis ekstrak, pola inhibisi edema tidak menunjukkan hubungan yang linear. Efek antiinflamasi dari terendah ke tertinggi ditimbulkan oleh ekstrak dosis 100, 400, dan 200 mg/kg secara berturut-turut.

Efek antiinflamasi dari hasil penelitian ini didukung secara lebih spesifik oleh uji statistika lanjutan pada titik 120 menit yang menggambarkan perbedaan volume edema secara signifikan antar kelompok (Tabel 3). Volume edema akibat ekstrak dosis 200 dan 400 mg/kg berbeda secara bermakna dengan kontrol larutan pembawa CMC-Na ($p < 0,05$),

Gambar 1. Grafik perubahan edema tiap waktu dan nilai inhibisi inflamasi



Tabel 2. Hasil pengukuran volume telapak kaki hewan uji tiap waktu

Perlakuan (n=5)	Dosis po (mg/kg)	Rerata BB (g)	Rerata Volume (ml) ± SD menit ke ^b				
			0*	30	60	90	120*
Na-Diklofenak (+)	9	191,60 ± 5,77	0,07 ± 0,01	0,17 ± 0,04	0,16 ± 0,04	0,14 ± 0,04	0,25 ± 0,25
CMC-Na 1% (-)	pembawa ^a	186,40 ± 4,22	0,08 ± 0,04	0,15 ± 0,06	0,17 ± 0,06	0,19 ± 0,06	0,22 ± 0,06
Ekstrak Cm1	100	186,00 ± 3,74	0,07 ± 0,04	0,17 ± 0,03	0,16 ± 0,03	0,15 ± 0,04	0,16 ± 0,03
Ekstrak Cm2	200	187,80 ± 4,97	0,04 ± 0,01	0,12 ± 0,05	0,11 ± 0,04	0,09 ± 0,04	0,07 ± 0,04
Ekstrak Cm3	400	189,60 ± 4,04	0,07 ± 0,04	0,18 ± 0,08	0,16 ± 0,08	0,13 ± 0,07	0,10 ± 0,07
Hasil Uji Statistik			p = 0,325	p = 0,468	p = 0,458	p = 0,080	p = 0,013**

Keterangan:

^asesuai rentang volume pemberian pada kelompok uji dan berat badan hewan uji (5 ml/kg)

^bAnalisis statistik dilakukan dengan Uji Kruskal-Wallis (menit 0 dan 120) serta Uji *One-Way* ANOVA (menit 30, 60, dan 90)

*normalitas data tidak terpenuhi dengan Uji Saphirowilk

**menunjukkan perbedaan bermakna (tingkat kepercayaan 95%)

BB = berat badan; Cm = kulit buah pomelo (*Citrus maxima*); n = jumlah sampel tiap kelompok, po = per oral; SD = standar deviasi

sehingga potensi efek antiinflamasi dari ekstrak etanol kulit buah pomelo telah terbukti pada penelitian ini. Disamping itu, non-linearitas hubungan dosis-efek pada ekstrak perlakuan juga ditunjukkan oleh perbedaan signifikan volume edema antara kelompok dosis 100 mg/kg dengan 200 mg/kg, namun tidak signifikan antara dosis 100 atau 200 mg/kg dengan dosis 400 mg/kg.

Tabel 3. Hasil statistika lanjutan pada menit ke-120

Kelompok Uji*		Nilai p
CMC-Na 1%	Na-Diklofenak	0,168
	Ekstrak Cm1 (100 mg/kg)	0,104
	Ekstrak Cm2 (200 mg/kg)	0,009**
	Ekstrak Cm3 (400 mg/kg)	0,021**
Na-Diklofenak	Ekstrak Cm1 (100 mg/kg)	0,592
	Ekstrak Cm2 (200 mg/kg)	0,017**
	Ekstrak Cm3 (400 mg/kg)	0,389
	Ekstrak Cm2 (200 mg/kg)	0,019**

Ekstrak Cm1	Ekstrak Cm3 (400 mg/kg)	0,131
Ekstrak Cm2	Ekstrak Cm3 (400 mg/kg)	0,525

Keterangan:

*Uji statistika *post-hoc* dengan *Mann-Whitney* merit 120

**perbedaan bermakna (tingkat kepercayaan 95%)

2. Pembahasan

Ekstrak etanol 70% dari kulit buah pomelo pada penelitian ini mengandung metabolit sekunder yang menyerupai kandungan dari kulit buah pomelo berdasarkan beberapa penelitian dan pustaka terkait. Penelitian-penelitian sebelumnya mengidentifikasi berbagai jenis ekstrak kulit buah pomelo yang menggunakan pelarut etanol [1], metanol [19], atau n-heksan [20]. Kulit buah pomelo dilaporkan mengandung produk-produk metabolit maupun nutrien, antara lain alkaloid, terpenoid, flavonoid, karbohidrat, vitamin B, vitamin C, vitamin E, mineral-mineral makro, zat fenolik, tanin, dan saponin. Berdasarkan beberapa tinjauan lainnya, kulit buah pomelo juga mengandung aglikon glikosida, senyawa volatil, kumarin, karotenoid, dan pektin [2,3,7]. Pada penelitian ini, saponin adalah satu-satunya kandungan metabolit sekunder kulit buah pomelo yang tidak bereaksi positif. Hal ini dapat disebabkan oleh polaritas pelarut yang digunakan. Pada teknik ekstraksi, biasanya metanol cenderung lebih sering digunakan untuk penyarian saponin, karena polaritasnya yang lebih tinggi dibandingkan etanol [15].

Beberapa jenis metabolit sekunder dalam kulit buah pomelo telah diusulkan sebagai senyawa aktif yang memberikan efek antiinflamasi, namun perbedaan pelarut dari masing-masing eksperimen mempengaruhi variasi senyawa hasil ekstraksi. Flavonoid beserta aglikonnya seperti naringenin dan hesperitin, kumarin, polisakarida, dan senyawa fenolik sering disebutkan sebagai komponen bioaktif pada ekstrak yang diuji efek antiinflamasinya pada berbagai model

hewan uji [2,3,7]. Penelitian yang menggunakan ekstrak dengan pelarut lebih polar seperti etanol maupun metanol mengklaim bahwa flavonoid dan senyawa fenolik bertanggung jawab terhadap efek antiinflamasi yang dihasilkan [11]. Sementara itu, kumarin adalah isolat dari ekstrak kulit buah pomelo dengan pelarut semi polar etil asetat, yang diduga memberikan efek antiinflamasi terhadap hewan uji [21]. Mempertimbangkan data-data tersebut, dugaan senyawa bioaktif pada penelitian ini lebih relevan dengan pernyataan terkait peran dari kandungan flavonoid pada ekstrak kulit buah pomelo sebagai agen antiinflamasi.

Mekanisme flavonoid dari ekstrak kulit buah pomelo dalam mengurangi inflamasi berkaitan dengan penghambatan sintesis prostaglandin. Dalam ranah seluler, flavonoid dapat menghambat fosforilasi suatu protein kinase serin/treonin yang disebut I κ B kinase (IKK). Inhibisi proses ini kemudian mencegah aktivasi jalur faktor nuklear kappa B (NF- κ B) kanonikal [7]. NF- κ B adalah mediator pusat terhadap induksi gen pro-inflamasi dan sel-sel imun yang secara kompleks bekerja dalam menghasilkan respon inflamasi tubuh. Target inflamasi NF- κ B tidak hanya secara langsung meningkatkan sitokin, kemokin, dan molekul adesi, tetapi juga mengatur proliferasi, apoptosis, morfogenesis, dan diferensiasi sel. Beberapa gen pro-inflamasi yang dikendalikan oleh NF- κ B meliputi faktor nekrosis tumor alfa (TNF- α), interleukin (IL-1 β , IL-6, IL-12p40), dan siklooksigenase 2 (COX-2) [22]. Apabila jalur NF- κ B dihambat, maka enzim COX-2 juga tidak akan terbentuk untuk membantu menghasilkan prostaglandin dalam jalur asam arakidonat [23]. Memahami mekanisme di atas, maka sejauh ini pembandingan ekstrak buah pomelo yang menggunakan obat-obat golongan *non-steroidal anti-inflammatory drugs* (NSAID)

pada studi-studi sebelumnya [11,12,21,24] termasuk penelitian ini, sudah cukup sesuai.

Temuan pada penelitian ini telah memperkaya data terkait hubungan antara dosis terhadap efek penghambatan inflamasi oleh ekstrak etanol kulit buah pomelo. Mayoritas dari penelitian sebelumnya hanya menguji dosis tunggal dari ekstrak dengan pelarut tertentu [12], satu dosis dari beberapa jenis ekstrak [24], atau dua dosis dari satu hingga beberapa jenis ekstrak [11,21]. Dosis ekstrak yang digunakan pada penelitian ini tidak berbanding lurus dengan efek antiinflamasi yang dihasilkan. Dosis 200 mg/kg menunjukkan inhibisi edema yang lebih besar daripada dosis terbesar, yaitu 400 mg/kg, relatif terhadap kontrol negatif CMC-Na 1%. Sementara itu, penelitian-penelitian sebelumnya melaporkan bahwa hasil penghambatan inflamasi cenderung lebih besar pada dosis berbagai macam ekstrak yang lebih tinggi. Akan tetapi, kurangnya titik pembandingan dosis ketiga [11,12,21] atau bahkan tanpa pembandingan dosis ekstrak [24] pada penelitian-penelitian sebelumnya belum dapat meyakinkan pola sesungguhnya dari tingkat efek antiinflamasi yang dihasilkan sehubungan dengan perbedaan dosis.

Disamping itu, justifikasi perbedaan hasil penelitian saat ini perlu melihat sudut pandang beberapa aspek yang juga berbeda pada studi-studi sebelumnya. Pertama, terdapat perbedaan hewan uji pada studi sebelumnya, seperti mencit [11,21]. Mencit dan tikus merupakan pilihan hewan uji pengerat yang sering digunakan pada eksperimen farmakologi, karena keduanya mampu mewakili respon dari proses biologis manusia. Akan tetapi, perbedaan ukuran tubuh dan beberapa kebiasaan khas tertentu dapat mempengaruhi hasil pengamatan pada masing-masing hewan uji tersebut [25]. Kedua, terdapat perbedaan jenis pelarut

ekstrak yang digunakan. Flavonoid yang diduga berperan aktif sebagai agen antiinflamasi pada kandungan kulit buah pomelo, dapat tersari lebih banyak pada pelarut yang lebih polar sesuai urutannya [15], yaitu air [24], metanol [11,21], etanol [12,21,24], dan aseton [24]. Ditambah lagi, faktor sumber kulit buah pomelo yang berasal dari lokasi geografis berbeda (India, Bangladesh, dan Cina) dapat berpengaruh pada kuantitas flavonoid dalam masing-masing ekstrak [13]. Terakhir, pilihan dosis uji pada masing-masing studi sebelumnya memiliki pertimbangan tersendiri, baik yang dijelaskan dari segi pertimbangan dosis hasil uji toksisitas [12,21], maupun yang pertimbangannya tidak dijelaskan [11,24].

Secara garis besar, selain menyumbangkan data terkait pengaruh dosis terhadap efek antiinflamasi ekstrak kulit buah pomelo yang belum disediakan dari penelitian sebelumnya, beberapa poin menguatkan penelitian ini. Pertimbangan pengembangan dosis penelitian ini berdasarkan pada rentang dosis yang mulai memberikan efek pada penelitian sebelumnya [11,12,24] dan telah disesuaikan pada hewan uji tikus sesuai acuan faktor konversi dosis obat pada hewan [17]. Pengukuran volume edema pada kaki tikus cenderung lebih mudah dibandingkan mencit, sehingga meminimalkan selisih pengukuran [25]. Penggunaan hewan uji spesifik dengan tikus jantan galur Wistar pada penelitian ini juga dapat meminimalkan variabilitas efek terkait perbedaan respon biologis antara tikus jantan dan tikus betina. Sebetulnya penggunaan tikus jantan dan betina seperti pada penelitian sebelumnya [12] sejalan dengan anjuran eksperimen terkini, namun metodologinya perlu dilakukan dengan desain faktorial yang jelas dan rasional [26,27]. Penggunaan etanol sebagai pelarut ekstrak pada penelitian ini

juga mempertimbangkan aspek kelarutan, keamanan, dan biaya [28].

Disisi lain, beberapa keterbatasan belum dapat difasilitasi pada penelitian ini. Untuk sementara, waktu pengamatan pada penelitian ini hanya dapat menggambarkan onset tercepat dari aksi antiinflamasi ekstrak yang memberikan perbedaan dengan kontrol negatif. Hal ini merujuk pada signifikansi efek penurunan edema pada studi sebelumnya yang mulai terlihat pada 1-2 jam observasi [11,12,24]. Walaupun demikian, perbandingan volume edema berdasarkan tiap titik waktu pada penelitian ini sudah diilustrasikan dalam bentuk grafik untuk melihat perubahannya secara simultan antar kelompok. Pertimbangan biaya pelaksanaan mempengaruhi preparasi ekstrak yang terhenti sebelum mendapatkan fraksi spesifik dan inisiasi uji toksisitas. Fraksi spesifik tertentu, seperti flavonoid total murni dari ekstraksi pelarut polar perlu dibandingkan dengan aktivitas kumarin, seperti yang dilakukan pada penelitian sebelumnya [21]. Perbandingan ini dapat memberikan jawaban lebih dalam terkait mekanisme aksi antiinflamasi dari kandungan kulit buah pomelo yang diwakili oleh efek dari senyawa polar atau yang kurang polar. Terakhir, uji toksisitas dapat membantu mengidentifikasi respon hasil pengamatan gejala atau tanda yang tidak sesuai dengan efek antiinflamasi serta memberikan gambaran rentang dosis toksik ekstrak etanol kulit buah pomelo pada penelitian ini.

D. SIMPULAN DAN SARAN

1. SIMPULAN

Berdasarkan *carrageenan-induced hind paw edema method*, ekstrak etanol 70% kulit buah pomelo pada penelitian ini menunjukkan adanya efek antiinflamasi yang berbeda signifikan akibat dosis 200 dan 400 mg/kg terhadap kontrol negatif pada titik 120 menit.

Kenaikan dosis ekstrak tidak mempengaruhi kenaikan efek antiinflamasi secara bersamaan, dimana dosis 200 mg/kg menyebabkan penghambatan inflamasi tertinggi (68,18%) dibandingkan dosis 100 dan 400 mg/kg. Efek antiinflamasi diduga berasal dari kandungan flavonoid pada ekstrak kulit buah pomelo yang menghambat jalur prostaglandin.

2. SARAN

Keterbatasan pada penelitian ini menyambut urgensi untuk kelanjutan penelitian mendatang yang berfokus pada beberapa poin terkait perpanjangan waktu pengamatan hingga pemejanaan kronik, nilai dosis letal berdasarkan uji toksisitas, penambahan tingkatan dosis maksimum yang memperhatikan batasan hingga dosis letal, desain faktorial dengan model hewan uji jantan maupun betina, dan penggunaan fraksi senyawa metabolit khusus yang terduga mewakili efek antiinflamasi dari ekstrak kulit buah pomelo.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tim penulis mengucapkan terima kasih kepada Made Ayu Rini Astuti dan Laboratorium Farmakologi Sekolah Tinggi Farmasi Mahaganesha yang telah mendukung proses penelitian, baik secara material maupun prosedural.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] Ani, P. N., & Abel, H. C. (2018). Nutrient, Phytochemical, and Antinutrient Composition of *Citrus maxima* Fruit Juice and Peel Extract. *Food Science & Nutrition*, vol.6, no.03, 653–658.
- [2] Sapkota, B., Devkota, H. P., Poudel, P. (2022). *Citrus maxima* (Brum.) Merr. (Rutaceae): Bioactive Chemical Constituents and Pharmacological Activities. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM*, vol.2022, 8741669.
- [3] Anmol, R. J., Marium, S., Hiew, F. T., Han, W. C., Kwan, L. K., Wong, A. K. Y., Khan, F.,

- Sarker, M. M. R., Chan, S. Y., Kifli, N., & Ming, L. C. (2021). Phytochemical and Therapeutic Potential of *Citrus grandis* (L.) Osbeck: A Review. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, vol.26, 2515690X211043741.
- [4] Badan Pusat Statistik. 2023. Produksi Tanaman Buah-buahan 2020, <https://www.bps.go.id/indicator/55/62/2/produksi-tanaman-buah-buahan.html>, diakses 11 April 2023.
- [5] Badan Pusat Statistik. 2023. Rata-rata Konsumsi Perkapita Seminggu Menurut Kelompok Buah-Buahan per Kabupaten/ Kota (Satuan Komoditas) 2022, <https://www.bps.go.id/indicator/5/2102/1/rata-rata-konsumsi-perkapita-seminggu-menurut-kelompok-buah-buahan-per-kabupaten-kota.html>, diakses 11 April 2023.
- [6] Gomes-Araújo, R., Martínez-Vázquez, D. G., Charles-Rodríguez, A. V., Rangel-Ortega, S., & Robledo-Olivo, A. (2021). Bioactive Compounds from Agricultural Residues, Their Obtaining Techniques, and the Antimicrobial Effect as Postharvest Additives. *International Journal of Food Science*, vol.2021, 9936722.
- [7] Tocmo, R., Pena-Fronteras, J., Calumba, K. F., Mendoza, M., & Johnson, J. J. (2020). Valorization of Pomelo (*Citrus grandis* Osbeck) peel: A Review of Current Utilization, Phytochemistry, Bioactivities, and Mechanisms of Action. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol.19, no.04, 1969–2012.
- [8] Wang, R. X., Zhou, M., Ma, H. L., Qiao, Y. B., & Li, Q. S. (2021). The Role of Chronic Inflammation in Various Diseases and Anti-inflammatory Therapies Containing Natural Products. *ChemMedChem*, vol.16, no.10, 1576–1592.
- [9] Furman, D., Campisi, J., Verdin, E., Carrera-Bastos, P., Targ, S., Franceschi, C., Ferrucci, L., Gilroy, D. W., Fasano, A., Miller, G. W., Miller, A. H., Mantovani, A., Weyand, C. M., Barzilai, N., Goronzy, J. J., Rando, T. A., Effros, R. B., Lucia, A., Kleinstreuer, N., & Slavich, G. M. (2019). Chronic Inflammation in the Etiology of Disease Across the Life Span. *Nature Medicine*, vol.25, no.12, 1822–1832.
- [10] World Health Organization. Invisible numbers: the true extent of noncommunicable diseases and what to do about them. Geneva: World Health Organization; 2022.
- [11] Ibrahim, Md., Amin, M. N., Millat, Md. S., Raju, J. A., Hussain, Md. S., Sultana, F., Islam, Md. M. & Hasan, Md. M. (2018). Methanolic Extract of Peel of *Citrus maxima* Fruits Exhibit Analgesic, CNS Depressant and Anti-inflammatory Activities in Swiss Albino Mice. *BEMS Reports*, vol.04, no.01, 7-11.
- [12] Malleshappa, P., Kumaran, R. C., Venkatarangaiah, K., & Parveen, S. (2018). Peels of Citrus Fruits: A Potential Source of Anti-inflammatory and Anti-nociceptive Agents. *Pharmacognsy Journal*, vol.10, no.06, suppl.s172-s178.
- [13] Yang, L., Wen, K. S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F., & Wang, Q. (2018). Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. *Molecules (Basel, Switzerland)*, vol.23, no.04, 762.
- [14] Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., Kurniadi, B. Buku ajar fitokimia. 1st ed. Surabaya: Airlangga University Press; 2008.
- [15] Egbuna, C., Ifemeje, J. C., Udedi, S. C., Kumar, S. *Phytochemistry volume 1 fundamentals, modern techniques, and applications*. USA: Apple Academic Press; 2019.
- [16] Zainuddin, M. *Metodologi penelitian kefarmasian dan kesehatan*. 2nd ed. Surabaya: Airlangga University Press; 2014.
- [17] Wang-Fischer, Y. *Manual of stroke models in rat*. New York: Taylor & Francis Group; 2009.
- [18] White, S. E. *Basic and clinical biostatistics*. 5th ed. New York: McGraw-Hill Education; 2020.
- [19] Ademosun, A. O., Adebayo, A. A., & Oboh, G. (2018). Modulatory Effect of Some Citrus (*Citrus limon*, *Citrus reticulata*, *Citrus maxima*) Peels on Monoamine Oxidase, Phosphodiesterase-5 and Angiotensin-1 Converting Enzyme Activities in Rat Heart

- Homogenate. *Journal of Complementary & Integrative Medicine*, vol.16, no.01, 10.1515/jcim-2018-0067.
- [20] Khan N. H., Qian C. J., & Perveen N. (2018). Phytochemical Screening, Antimicrobial and Antioxidant Activity Determination of *Citrus maxima* Peel. *Pharmacy & Pharmacology International Journal*, vol.06, no.04, 279-285.
- [21] Zhao, Y. L., Yang, X. W., Wu, B. F., Shang, J. H., Liu, Y. P., Zhi-Dai, & Luo, X. D. (2019). Anti-inflammatory Effect of Pomelo Peel and Its Bioactive Coumarins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol.67, no.32, 8810–8818.
- [22] Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S. C. (2017). NF- κ B Signaling in Inflammation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, vol.02, 17023–.
- [23] Katzung, B. G. *Basic & clinical pharmacology*. 14th ed. New York: McGraw-Hill Education; 2018.
- [24] Shivananda A., Muralidhara R. D., & Jayaveera K. N. (2013). Analgesic and Anti-inflammatory Activities of *Citrus maxima* (J.Burm) Merr in Animal Models. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, vol.04, no.02, 1800–1810.
- [25] Bryda E. C. (2013). The Mighty Mouse: The Impact of Rodents on Advances in Biomedical Research. *Missouri Medicine*, vol.110, no.03, 207–211.
- [26] Becker, J. B., Prendergast, B. J., & Liang, J. W. (2016). Female Rats are not More Variable than Male Rats: A Meta-Analysis of Neuroscience Studies. *Biology of Sex Differences*, vol.07, 34.
- [27] Miller, L. R., Marks, C., Becker, J. B., Hurn, P. D., Chen, W. J., Woodruff, T., McCarthy, M. M., Sohrabji, F., Schiebinger, L., Wetherington, C. L., Makris, S., Arnold, A. P., Einstein, G., Miller, V. M., Sandberg, K., Maier, S., Cornelison, T. L., & Clayton, J. A. (2017). Considering Sex as a Biological Variable in Preclinical Research. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, vol.31, no.01, 29–34.
- [28] Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for Extraction and Isolation of Natural Products: A Comprehensive Review. *Chinese Medicine*, vol.13, 20.