

**KANDUNGAN KIMIA DAN UJI ANTIINFLAMASI
EKSTRAK ETANOL *Lantana camara* L.
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* L.) JANTAN**

Oleh

Nur Annis Hidayati

M0401041

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Obat tradisional adalah ramuan bahan alami yang belum dimurnikan berasal dari tumbuhan atau hewan yang digunakan untuk pengobatan secara tradisional (Tjokronegoro dan Baziat, 1992). Obat tradisional merupakan salah satu alternatif dalam pengobatan karena efek sampingnya dianggap lebih kecil dan harganya lebih murah dibandingkan obat modern (Siswanti dkk., 2003). Agar pemakaian obat tradisional dapat dipertanggungjawabkan, perlu dilakukan berbagai penelitian baik untuk mencari komponen aktifnya maupun untuk menilai efektifitas dan keamanannya (Tjokronegoro dan Baziat, 1992).

Indonesia merupakan negara yang memiliki banyak jenis tumbuhan yang menjadi sumber obat tradisional (Rusdi, 1988). Tumbuhan obat ini merupakan sumber zat-zat kimia baru yang penting dalam dunia pengobatan. Banyak genus dari famili Verbenaceae yang mempunyai sifat-sifat farmakologis, di antaranya

adalah genus *Lantana* yang telah dipelajari secara intensif. Contohnya fraksi flavonoid dari daun *L. montevidensis* Briq. menunjukkan aktivitas antiproliferasi (Nagao *et al.*, 2002) dan *L. trifolia* L. menunjukkan aktivitas antiinflamasi (Uzcátegui *et al.*, 2004).

Tumbuhan yang secara tradisional digunakan untuk mengurangi pembengkakan, dapat dipandang sebagai sumber obat antiinflamasi baru (Uzcátegui *et al.*, 2004). Efek antiinflamasi pada berbagai tumbuhan disebabkan oleh senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. *L. trifolia* mempunyai aktivitas antiinflamasi karena mengandung flavonoid (Uzcátegui *et al.*, 2004). Sementara Abe (1980) dalam Pramono (2005), menyatakan bahwa saponin juga menunjukkan aktivitas antiinflamasi. Obat-obatan analgetik non narkotik atau biasa disebut obat antiinflamasi non steroid disamping mempunyai efek analgetik juga berefek antipiretik dan antiinflamasi (Uzcátegui *et al.*, 2004). Pudjiastuti dan Hendarti (1999) mengatakan bahwa dari 36 tanaman yang telah diteliti mempunyai efek analgetik hampir semuanya mengandung minyak atsiri. Dengan demikian dapat diduga bahwa minyak atsiri juga memiliki efek antiinflamasi.

Lantana camara L. di Indonesia telah digunakan sebagai obat bengkak, rematik, keputihan, dan penurun panas (Anonim, 2002), namun pemakaiannya baru secara tradisional. Oleh sebab itu, perlu dilakukan suatu penelitian tentang khasiat *L. camara* sebagai obat dalam hal ini obat antiinflamasi agar pemakaiannya dapat dipertanggungjawabkan.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, permasalahan yang dirumuskan dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana kandungan saponin, flavonoid, dan minyak atsiri pada akar, daun, dan buah *Lantana camara* L.?
2. Bagaimana pengaruh antiinflamasi ekstrak etanol *L. camara* terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui kandungan saponin, flavonoid, dan minyak atsiri pada akar, daun, dan buah *L. camara*.
2. Mengetahui efek antiinflamasi ekstrak etanol *L. camara* terhadap tikus putih (*R. norvegicus*) jantan.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat:

1. Memberikan informasi tentang kandungan saponin, flavonoid, dan minyak atsiri pada akar, daun, dan buah *L. camara*.
2. Memberikan informasi tentang efek antiinflamasi ekstrak etanol *L. camara* yang diduga mengandung saponin, flavonoid, dan minyak atsiri terhadap tikus putih (*R. norvegicus*) jantan.

3. Memberikan informasi tentang efek antiinflamasi ekstrak etanol *L. camara* terhadap tikus putih (*R. norvegicus*) jantan untuk memacu penelitian lebih lanjut dari tanaman *L. camara*.



BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Lantana camara L.

Tanaman *Lantana camara* L. berasal dari daerah amerika tropis yang kemudian menyebar ke daerah-daerah tropis dan subtropis. *L. camara* memiliki beragam kultivar. Kultivar-kultivarnya dapat dibedakan secara morfologis meliputi ukuran, bentuk dan warna bunga, rambut, dan warna daun serta duri batang; secara fisiologis meliputi tingkat pertumbuhan dan toksisitasnya; jumlah kromosom, dan kandungan DNA (Binggeli, 1999). *L. camara* tidak dapat tumbuh pada suhu $-2,2^{\circ}\text{C}$ namun cepat tumbuh kembali apabila kondisi lingkungan menguntungkan (Scheper, 1996).

a. Klasifikasi

Tanaman *L. camara* merupakan perdu menahun yang berbunga sepanjang tahun (Tropilab, 2005; Scheper, 1996). Dalam dunia tumbuhan, *L. camara* dapat diklasifikasikan sebagai berikut.

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Solanales
Famili	: Verbenaceae
Genus	: <i>Lantana</i>
Spesies	: <i>Lantana camara</i> L. (Tjitrosoepomo, 2000; Steenis, 1987)

Beberapa sinonim *L. camara* : *L. aculeata* L., *L. antillana* Raf., *L. scabrida* Soland. (USDA, 2004), saliar (Sunda), tembelekan (Jawa) (Steenis, 1987).

b. Habitus

Perdu yang bercabang banyak, tinggi 0,5-5 m (Steenis, 1987). Batang bersegi empat, agak tegak, kadang-kadang memanjat (USDA, 2004), yang muda penuh dengan rambut, kelenjar kecil, dan berduri tempel. Daun berbentuk bulat telur, pangkal tumpul, ujung runcing, permukaan atas berbulu kasar, permukaan bawah berbulu jarang (Steenis, 1987), tepi bergerigi (Scheper, 1996), warna kuning kehijauan sampai hijau, panjang 2-12 cm, lebar 2-6 cm (USDA, 2004), duduk daun berhadapan, panjang tangkai daun 1,5-3 cm (Backer dan Bakhuizen van den Brink, 1965). Daun pelindung berbentuk bulat telur, panjang kurang lebih 0,5 cm (Steenis, 1987). Bunga muncul dari ketiak daun, merupakan bunga majemuk tak terbatas dalam karangan yang disebut bunga payung (Scheper, 1996). Kelopak berbentuk tabung lonceng, berlekuk tidak dalam, tinggi kurang lebih 2 mm (Steenis, 1987). Mahkota berwarna-warni, berubah warna karena umur, bunga tengah lebih muda sedangkan bunga tepi yang lebih tua berwarna lebih gelap (USDA, 2004), seperti dari putih ke kuning, oranye ke merah, merah muda ke merah tua (Scheper, 1996). Tabung mahkota membengkok, panjang kurang lebih 1 cm, tepian bertaju 4-5 yang tidak sama besar. Benang sari 4, 2 panjang, sementara 2 lainnya pendek. Buah batu, berbentuk bulat telur (Steenis,

1987), berdiameter 3-6 mm, mengkilat, berwarna hijau tua, dan apabila masak menjadi hitam, mengandung 1-2 biji yang panjangnya 1,5 mm (Binggeli, 1999). *Lantana camara* L. tumbuh baik di bawah sinar matahari penuh (University of Florida, 2005) pada daerah dengan ketinggian 1-1700 m (Backer dan Bakhuizen van den Brink, 1965) yang menerima curah hujan 250-2900 mm per tahun (USDA, 2004).

c. Potensi dan Efek Samping

Tanaman *L. camara* merupakan tanaman hias yang sering digunakan sebagai tanaman pagar (Binggeli, 1999), dapat juga digunakan sebagai tanaman pantai karena tahan terhadap garam (Scheper, 1996). Tanaman ini dapat dikembangkan dengan baik untuk perlindungan alam terutama di daerah pegunungan untuk mencegah terjadinya erosi (Binggeli, 1999). Walaupun berkualitas rendah, di negara-negara belum berkembang, batang dan ranting tanaman ini dimanfaatkan sebagai bahan bakar (USDA, 2004).

Dalam pengobatan tradisional, infusa daun dan bagian tanaman lainnya digunakan sebagai antiinflamasi, tonikum, ekspektoran, dan sering ditambahkan pada air mandi untuk mengatasi rematik (USDA, 2004). Selain itu juga dimanfaatkan untuk mengurangi gatal dan mengatasi flu (Tropilab, 2005). Di Suriname, daun *L. camara* dimanfaatkan untuk mengatasi demam dan sebagai antiseptik pada luka (Tropilab, 2005). Ekstrak daun menunjukkan aktivitas antimikroba (USDA, 2004). Minyak atsiri dari daun dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Gunawan, 1991), sementara akar *L. camara* menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *Candida*

albicans, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Sulistiyowati, 1988). Beberapa metabolit yang diisolasi dari daun bahkan menunjukkan potensi sebagai antitumor (Uzcátegui *et al.*, 2004).

Daun dan beberapa bagian lain dari tanaman *L. camara* mengandung racun, sehingga dalam penggunaannya harus berhati-hati (USDA, 2004). Pada hewan pemakan rumput, efek toksiknya adalah fotosensitisasi dan hepatotoksisitas (Uzcátegui *et al.*, 2004). Fotosensitisasi terjadi 1-2 hari setelah mengkonsumsi daun atau buah mentah sebanyak 1% atau lebih berat badan hewan. Pada kasus akut, dapat terjadi kematian dalam 2-4 hari (Youngen, 2005). Buah mentah apabila dikonsumsi, dilaporkan telah menyebabkan kematian pada anak-anak (Binggeli, 1999). Akar *L. camara* juga dilaporkan menghasilkan efek alelopati yang dapat meningkatkan kemampuannya berkompetisi dengan tanaman lain (University of Florida, 2005; USDA, 2004).

d. Kandungan Senyawa Aktif

L. camara mengandung alkaloid (Ristiyowati, 2004; Sukarsono dkk., 2003) yaitu lantanin (Salmon, 2005), flavonoid (Ristiyowati, 2004; Sukarsono dkk., 2003) yaitu umuhengerin (Salmon, 2005), lantaden A, lantaden B (Youngen, 2005; Wijayakusuma, 2000; Tyler *et al.*, 1988), dihidrolantaden A, ikterogenin (Youngen, 2005), saponin, minyak atsiri, senyawa sterol, dan iridoid (Gunawan, 1991; Sulistiyowati, 1988). Gunawan (1991) berhasil mengidentifikasi adanya kariofilen dan eugenol dalam minyak atsiri daun *L. camara*. Ristiyowati (2004) melaporkan bahwa fraksi n-butanol dari akar *L. camara* mengandung tanin, saponin, flavonoid, dan alkaloid, sedangkan

bunganya mengandung tanin, flavonoid, alkaloid, dan terpenoid (Asmawati, 2004).

2. Metabolit Sekunder

a. Saponin

Saponin berasal dari bahasa Latin *sapo* yang berarti sabun. Hal ini dapat dilihat dari sifatnya yang seperti sabun, yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air (Osborn, 2003). Sifat khas dari saponin adalah berasa pahit, larut dalam etanol dan kloroform, dan apabila dikocok dengan air akan menimbulkan busa (Rusdi, 1988). Saponin merupakan metabolit sekunder yang termasuk golongan glikosida (Robinson, 1991), tersusun dari senyawa gula dan suatu aglikon (sapogenin) yang terikat pada suatu oligosakarida (Manitto, 1992). Ada tiga jenis saponin, yaitu glikosida steroid, glikosida steroid alkohol, dan glikosida terpen (Hopkins, 1999).

Saponin merupakan bahan baku untuk sintesis hormon seks, kortikosteroid, dan turunan steroid (Manitto, 1992) serta dapat digunakan sebagai antiseptik (Sumastuti, 1999). Saponin dari berbagai sumber menunjukkan mempunyai aktivitas hipokolesterolemik, antikoagulan, antikarsinogenik, hepatoprotektif, hipoglikemik, imunomodulator, neuroprotektif, antiinflamasi, dan antioksidan (Rao dan Gurfinkel, 2000). Di antara berbagai jenis saponin ada yang mempunyai khasiat antiinflamasi, bahkan steroidal saponin juga memiliki efek antiinflamasi (Sumastuti, 1999).

b. Flavonoid

Pada 1930 senyawa baru diisolasi dari jeruk yang dipercaya merupakan anggota vitamin baru dan disebut vitamin P. Ketika diketahui bahwa senyawa ini adalah flavonoid (rutin), banyak penelitian untuk mengisolasi dan mempelajari mekanisme aksi flavonoid (Nijveldt *et al.*, 2001). Flavonoid tersebar merata dalam dunia tumbuhan (Wink, 1999; Harborne, 1996; Arifin dkk., 1990) dan merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar, karena sekitar 2% dari karbon yang difotosintesis oleh tumbuhan, yaitu sekitar 10^9 ton/tahun diubah menjadi flavonoid atau senyawa lain yang berikatan dengannya. Flavonoid merupakan suatu golongan metabolit sekunder yang terdapat pada semua bagian tumbuhan seperti daun, akar, kayu, buah, dan biji (Markham, 1988).

Flavonoid di dalam tumbuhan umumnya dijumpai dalam dua bentuk yaitu aglikon flavonoid dan glikosida flavonoid. Aglikon flavonoid seperti isoflavan, flavanon, flavon maupun flavonol adalah flavonoid tanpa gula terikat sedangkan glikosida flavonoid adalah flavonoid yang terikat pada gula (Markham, 1988).

Flavonoid mudah mengalami peruraian karena panas, kerja enzim, adanya air dan pH. Flavonoid larut dalam air, metanol, etanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dan dimetilformamid (Mursyidi, 1990). Aglikon flavonoid merupakan senyawa flavonoid yang bersifat kurang polar, sehingga larut dalam pelarut seperti petroleum eter, heksana, benzena, kloroform, eter, dan etil asetat. Pengaruh glikosilasi (flavonoid glikosida) menyebabkan flavonoid lebih mudah

larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, aseton maupun air (Harborne, 1996).

Efek flavonoid terhadap berbagai macam organisme sangat banyak dan dapat menjelaskan mengapa tumbuhan yang mengandung flavonoid digunakan dalam pengobatan (Utami dan Purwadi, 1999). Senyawa flavonoid mempunyai beberapa efek, di antaranya adalah efek analgesik (Robinson, 1991), antitumor, antioksidan, anti alergi (Achmad dkk., 1990), diuretik, antibiotik, antikonvulsan, sedatif, antifertilitas, dan antiinflamasi (Arifin dkk, 1990). Senyawa flavonoid oleh Willman dalam Sumastuti (1999) disebutkan dapat mengurangi pembengkakan, berefek bakterisidal, antivirus, dan antihistamin. Flavonoid mampu melindungi membran lipida terhadap reduksi yang bersifat merusak. Flavonoid tertentu merupakan komponen aktif tumbuhan yang digunakan secara tradisional untuk mengobati gangguan fungsi hati, mampu melindungi membran sel hati dan menghambat sintesis prostaglandin (Robinson, 1991).

c. Minyak Atsiri

Minyak atsiri adalah produk alami tanaman yang terakumulasi dalam struktur khusus seperti sel minyak, kelenjar trikoma dan saluran minyak atau saluran resin (Simon, 1990), merupakan hasil proses metabolisme tanaman yang disintesis dalam sel kelenjar pada jaringan tanaman. Minyak atsiri mempunyai bau yang khas sesuai dengan aroma bagian tanaman tertentu yang menghasilkannya (Guenther, 1987). Berdasarkan cara sintesisnya, minyak atsiri tumbuhan dibagi menjadi dua golongan. Golongan pertama merupakan turunan terpen yang terbentuk dari asam atsiri melalui jalur biosintesis asam mevalonat.

Golongan kedua merupakan senyawa aromatik yang terbentuk dari biosintesis asam sikimat melalui jalur fenilpropanoat (Agusta, 2000).

Minyak atsiri umumnya larut dalam pelarut organik dan akan menguap apabila dibiarkan di udara terbuka pada suhu kamar. Minyak atsiri terdiri dari campuran zat yang mudah menguap dengan komposisi dan titik didih yang berbeda-beda, termasuk golongan hidrokarbon asiklik dan isosiklik serta turunan hidrokarbon yang telah mengikat oksigen. Beberapa persenyawaan juga mengandung belerang dan nitrogen. Komponen kimia penyusun minyak atsiri dapat digolongkan dalam empat kelompok senyawa yang menentukan sifat minyak atsiri (Guenther, 1987), yaitu:

1. Terpen
2. Persenyawaan rantai lurus dengan turunannya yang mengandung oksigen, yaitu alkohol, aldehid, asam, keton, eter, dan ester
3. Turunan benzen, khususnya n-propil benzen
4. Berbagai macam persenyawaan lainnya.

Minyak atsiri memberikan manfaat bagi tumbuhan penghasilnya sebagai penarik serangga untuk membantu penyerbukan. Dalam industri, minyak atsiri digunakan sebagai bahan pewangi atau penyedap, selain itu minyak atsiri juga dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional karena mengandung senyawa-senyawa yang memiliki efek sebagai antibakteri, antifungal, antiviral, antioksidan, dan antitumor (Guenther, 1987).

3. Patofisiologi Inflamasi

Inflamasi merupakan respons terhadap kerusakan jaringan akibat berbagai rangsangan yang merugikan, misalnya akibat rangsangan kimia, mekanis (Sa'roni dan Dzulkarnain, 1989), infeksi (Kee dan Hayes, 1993), serta benda asing seperti bakteri (Ward, 1985) dan virus (Cleveland Clinic, 2003; Kee dan Hayes, 1993). Ketika proses inflamasi berlangsung, terjadi reaksi vaskular, sehingga cairan, elemen-elemen darah, sel darah putih (leukosit), dan mediator kimia berkumpul pada tempat yang cedera untuk menetralkan dan menghilangkan agen-agen yang berbahaya serta untuk memperbaiki jaringan yang rusak (Kee dan Hayes, 1993). Tanda-tanda inflamasi meliputi kerusakan mikrovaskuler, peningkatan permeabilitas kapiler, dan migrasi leukosit ke daerah inflamasi (Wilmana, 1995).

Reaksi inflamatori dapat menguntungkan jika merupakan pertahanan tubuh melawan agen yang mengganggu homeostasis tubuh (Stvrtinová *et al.*, 2005) namun ada kalanya dapat merugikan, seperti dalam beberapa penyakit ketika sistem imun tubuh memicu respon inflamasi walaupun tidak ada benda asing (Cleveland Clinic, 2003).

Berdasarkan lamanya proses, inflamasi biasanya dibedakan menjadi inflamasi akut dan inflamasi kronik. Inflamasi akut merupakan respon awal terhadap cedera jaringan terjadi dalam beberapa detik sampai beberapa menit yang ditandai dengan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas pembuluh darah sehingga timbul eritema dan edema. Inflamasi kronik terjadi selama beberapa jam atau lebih, melibatkan keluarnya sejumlah mediator yang tidak menonjol dalam respon akut (Furst dan Munster, 2001).

Ada beberapa tanda-tanda utama yang menunjukkan bahwa telah terjadi proses inflamasi, antara lain eritema, edema, panas, nyeri, dan gangguan fungsi.

a) Eritema /kemerahan/*rubor*

Kemerahan terjadi pada tahap pertama inflamasi. Darah terkumpul pada daerah cedera jaringan akibat pelepasan mediator kimia tubuh (kinin, prostaglandin, dan histamin), sehingga akan tampak kemerah-merahan.

b) Edema /pembengkakan/*tumor*

Pembengkakan merupakan tahap kedua dari inflamasi. Plasma darah merembes ke dalam jaringan interstisial pada tempat cedera sehingga menimbulkan bengkak.

c) Panas/*kalor*

Panas pada tempat inflamasi dapat disebabkan oleh bertambahnya pengumpulan darah dan mungkin juga karena pirogen, substansi yang dapat mempengaruhi pusat pengatur panas pada hipotalamus, sehingga menimbulkan demam.

d) Nyeri/*dolor*

Nyeri disebabkan oleh pembengkakan dan pelepasan senyawa-senyawa kimia.

e) Gangguan fungsi/*functio laesa*

Gangguan fungsi disebabkan penumpukan cairan pada tempat cedera jaringan dan karena rasa nyeri yang menyebabkan berkurangnya mobilitas jaringan pada daerah inflamasi (Kee dan Hayes, 1993).

Selama berlangsungnya inflamasi, banyak senyawa-senyawa yang dilepaskan secara lokal (Wilmana, 1995), antara lain:

a) Histamin

Histamin merupakan mediator pertama dalam proses inflamasi yang menyebabkan dilatasi arteriol dan meningkatkan permeabilitas kapiler sehingga plasma darah dapat meninggalkan kapiler dan mengalir ke daerah cedera. Hal ini dapat meningkatkan eksudasi cairan ke jaringan sehingga terjadi edema (Hamid dan Anwar, 1986).

b) Kinin

Kinin menyebabkan dilatasi arteriol, meningkatkan permeabilitas kapiler dan menimbulkan rasa nyeri.

c) Prostaglandin

Prostaglandin mempunyai berbagai efek pada pembuluh darah, ujung-ujung saraf dan sel-sel yang terlibat dalam inflamasi (Katzung, 2000). Prostaglandin menyebabkan bertambahnya vasodilatasi, permeabilitas kapiler, nyeri dan demam (Kee dan Hayes, 1993). Prostaglandin adalah turunan asam lemak tak jenuh yang mempunyai berbagai aktivitas fisiologis dan dibentuk oleh hampir semua jaringan mamalia (Faye, 1995). Pada awalnya diduga sintesisnya hanya dalam prostat sehingga diberi nama prostaglandin (PG), namun kemudian dikatakan senyawa ini dapat dibentuk lokal di seluruh tubuh, misalnya dinding lambung, pembuluh darah, trombosit, ginjal, rahim, dan paru-paru (Tjay dan Rahardja, 2002).

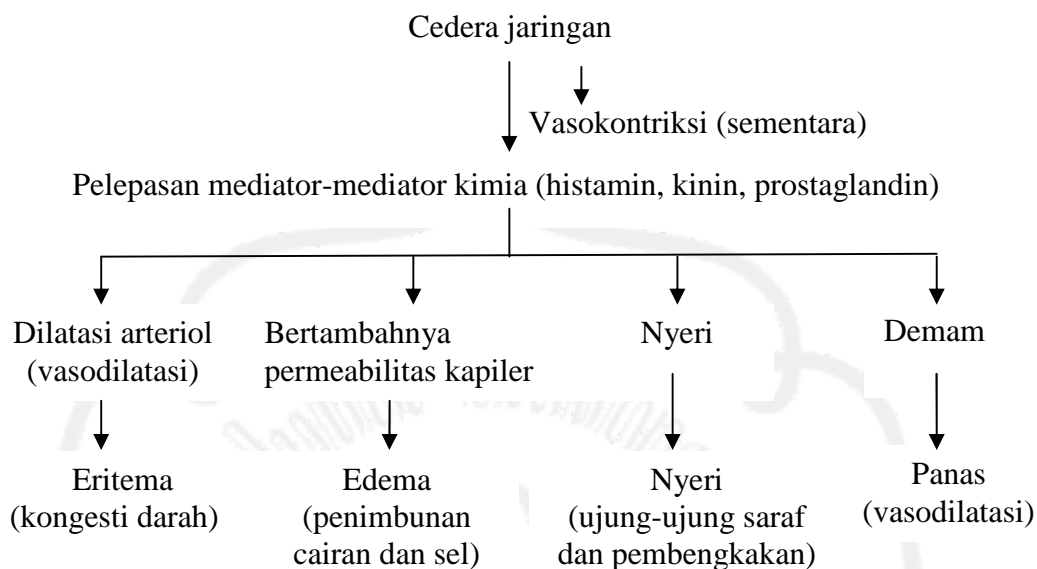
Prostaglandin disebut hormon lokal karena mempengaruhi proses fisiologis dekat tempat pelepasannya dan mempunyai mekanisme penginaktifan pada atau dekat lokasi pelepasan (Faye, 1995). Prostaglandin dilepaskan secara lokal pada daerah cedera sebagai pengatur inflamasi tubuh (Stone dan Freyer, 2004). Apabila membran sel mengalami kerusakan oleh suatu rangsangan kimiawi, fisik atau mekanis, maka enzim fosfolipase diaktifkan untuk mengubah fosfolipida menjadi asam arakhidonat. Selanjutnya asam arakhidonat kemudian diubah oleh enzim siklooksigenase menjadi asam endoperoksida dan seterusnya menjadi prostaglandin (Katzung, 2000). Bagian lain dari asam arakhidonat diubah oleh enzim lipooksigenase menjadi asam-asam hidroperoksi yang disebut SRSA (*Slow Reacting Substances of Anaphylaxis*) (Wilmana, 1995) dan leukotrien (Tjay dan Rahardja, 2002).

d) Leukotrien

Leukotrien mempunyai efek kemotaksis yang kuat pada eusinofil, neutrofil, dan makrofag serta meningkatkan bronkhokonstriksi dan perubahan-perubahan dalam permeabilitas pembuluh darah (Katzung, 2000). Baik prostaglandin maupun leukotrien bertanggung jawab terhadap sebagian besar gejala-gejala peradangan. Endoperoksida maupun asam-asam hidroperoksi akan melepaskan radikal-radikal oksida yang turut bertanggung jawab bagi rasa nyeri (Wilmana, 1995).

e) Mediator inflamasi lain seperti 5-hidroksitriptamin (5HT), faktor kemotaktik, bradikinin dan autakoid lipid PAF (*Platelet Activating Factor*) (Wilmana, 1995).

Proses-proses dari mediator-mediator kimia yang bekerja pada tempat cedera disajikan pada Gambar 1.



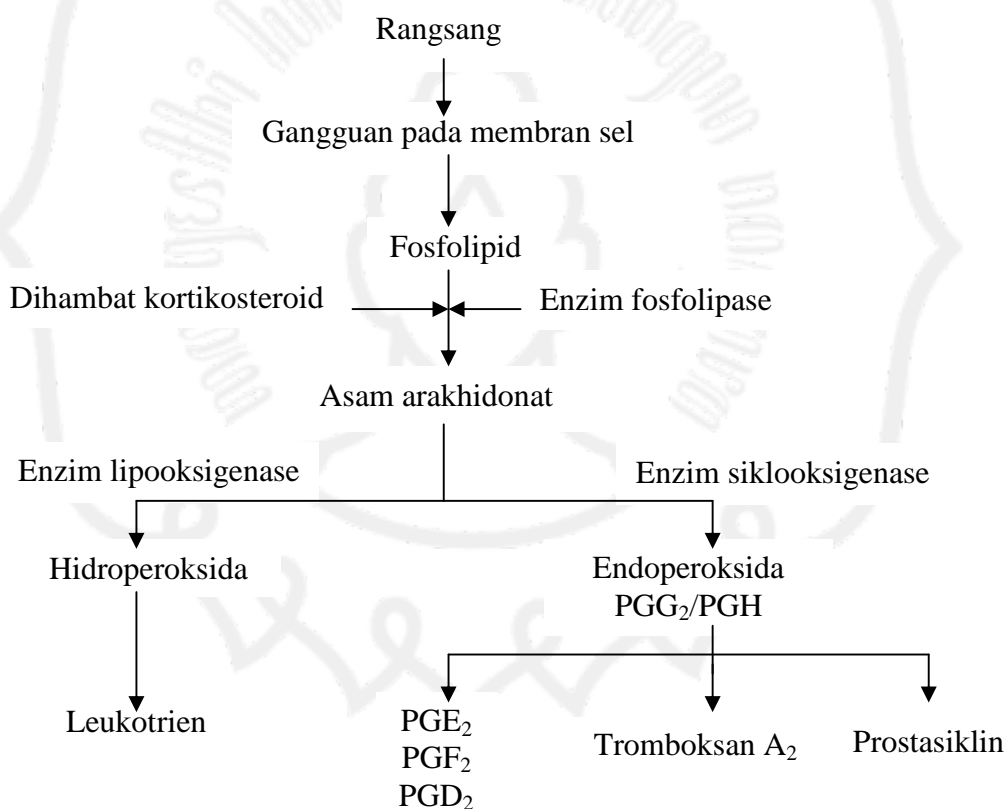
Gambar 1. Respon Mediator Kimia terhadap Cedera Jaringan (Kee dan Hayes, 1993)

4. Mekanisme Kerja Obat Antiinflamasi

Obat-obatan antiinflamasi nonsteroid (AINS) umumnya mengacu pada obat yang menekan inflamasi seperti halnya steroid, namun tanpa efek samping steroid. Selain itu, berbeda dengan steroid yang bekerja untuk mencegah pembentukan asam arakhidonat pada membran sel, obat AINS secara umum tidak menghambat biosintesis leukotrien, yang diketahui ikut berperan dalam inflamasi (Wilmana, 1995). Selain efektif untuk mengurangi nyeri dan demam, AINS juga umum digunakan untuk mengatasi gejala-gejala arthritis, encok, bursitis, nyeri haid, dan sakit kepala (Columbia Encyclopedia, 2005). Umumnya obat AINS yang digunakan untuk terapi rheumatoid arthritis, bermanfaat untuk

menghilangkan rasa sakit, dan mencegah edema akibat pengaruh prostaglandin (Wilmana, 1995).

Mekanisme kerja AINS yang berdasarkan atas penghambatan biosintesis prostaglandin (Gambar 2), mulai dilaporkan pada tahun 1971 oleh Vane dkk. yang memperlihatkan secara in vitro bahwa dosis rendah aspirin dan indomethacin menghambat produksi enzimatik prostaglandin. Penelitian lanjutan telah membuktikan bahwa prostaglandin akan dibentuk ketika sel mengalami kerusakan (Wilmana, 1995).



Gambar 2. Biosintesis Prostaglandin (Wilmana, 1995)

Keterangan gambar.

PGG₂ : Prostaglandin G₂

PGH : Prostaglandin H

PGE₂ : Prostaglandin E₂

PGF₂ : Prostaglandin F₂

PGD₂ : Prostaglandin D₂

AINS menghambat sintesis prostaglandin perifer di jaringan radang (Koppert *et al.*, 2004). Sintesis prostaglandin dari asam arakhidonat dikatalisis oleh enzim siklooksigenase (COX). Golongan obat AINS ini menghambat enzim COX (Ammar, 2005; Siswandono dan Soekarjo, 1995) sehingga konversi asam arakhidonat menjadi PGG₂ terganggu, meningkatkan perbaikan jaringan kolagen dan mencegah pengeluaran enzim-enzim lisosom melalui stabilisasi membran yang terkena radang (Ammar, 2005). Setiap obat menghambat COX dengan cara yang berbeda (Wilmana, 1995).

Ada dua bentuk isoform enzim COX yaitu COX-1 dan COX-2, yang terletak di otak dan *spinal chord* tikus, membran retikulum endoplasma, dan membran inti sel. Kedua isoform COX mempunyai ekspresi yang berbeda dan mengatur fungsi biologis yang berbeda pula (Zhang *et al.*, 2001). COX-1 diekspresikan hampir di semua jaringan (Koppert *et al.*, 2004) dan diduga berperan dalam sintesis prostaglandin yang terlibat dalam pengaturan homeostasis (Zhang *et al.*, 2001) seperti perlindungan dinding lambung (Stone dan Freyer, 2004; Challem, 2004), resorpsi natrium, dan air (Vane dan Botting, 1987 dalam Anikwue *et al.*, 2002). COX-2 merupakan enzim yang terlibat dalam biosintesis prostaglandin (Koppert *et al.*, 2004) yang ekspresinya dapat diinduksi oleh stimulus elektrik dan berbagai macam zat kimia seperti faktor pertumbuhan dan sitokin (Zhang *et al.*, 2001).

Klasifikasi obat AINS sebenarnya tidak banyak manfaat kliniknya, karena ada AINS dari sub golongan yang sama memiliki sifat yang berbeda, tetapi sebagian

besar efek terapinya sama yaitu menghambat biosintesis prostaglandin (Wilmana, 1995). Berdasarkan struktur kimianya, AINS dibagi menjadi tujuh kelompok, yaitu:

a) Turunan asam salisilat

Senyawa analgesik-antipiretik yang banyak digunakan adalah aspirin, salisilamid, dan diflunisal, yang merupakan turunan asam salisilat.

b) Turunan anilin dan para-aminofenol

Turunan anilin dan para-aminofenol mempunyai aktivitas analgesik-antipiretik yang sebanding dengan aspirin, tetapi efek antiinflamasinya sangat lemah. Contohnya asetaminofen, asetanilid, dan fenasetin.

c) Turunan 5-pirazolon dan 5-pirazolidindion

Turunan 5-pirazolon dan 5-pirazolidindion mempunyai aktivitas analgesik-antipiretik dan antiinflamasi. Senyawa ini jarang digunakan karena efek samping yang ditimbulkan adalah agranulositosis, yang dalam beberapa kasus dapat berakibat sangat fatal. Contohnya antipirin, amidopirin, fenilbutazon, dan oksifenbutazon.

d) Turunan asam N-arilantranilat

Terutama digunakan sebagai antiinflamasi dan sebagai analgesik untuk mengurangi rasa nyeri yang ringan dan moderat. Contohnya asam mefenamat, natrium meklofenamat.

e) Turunan asam arilasetat dan heteroarilasetat

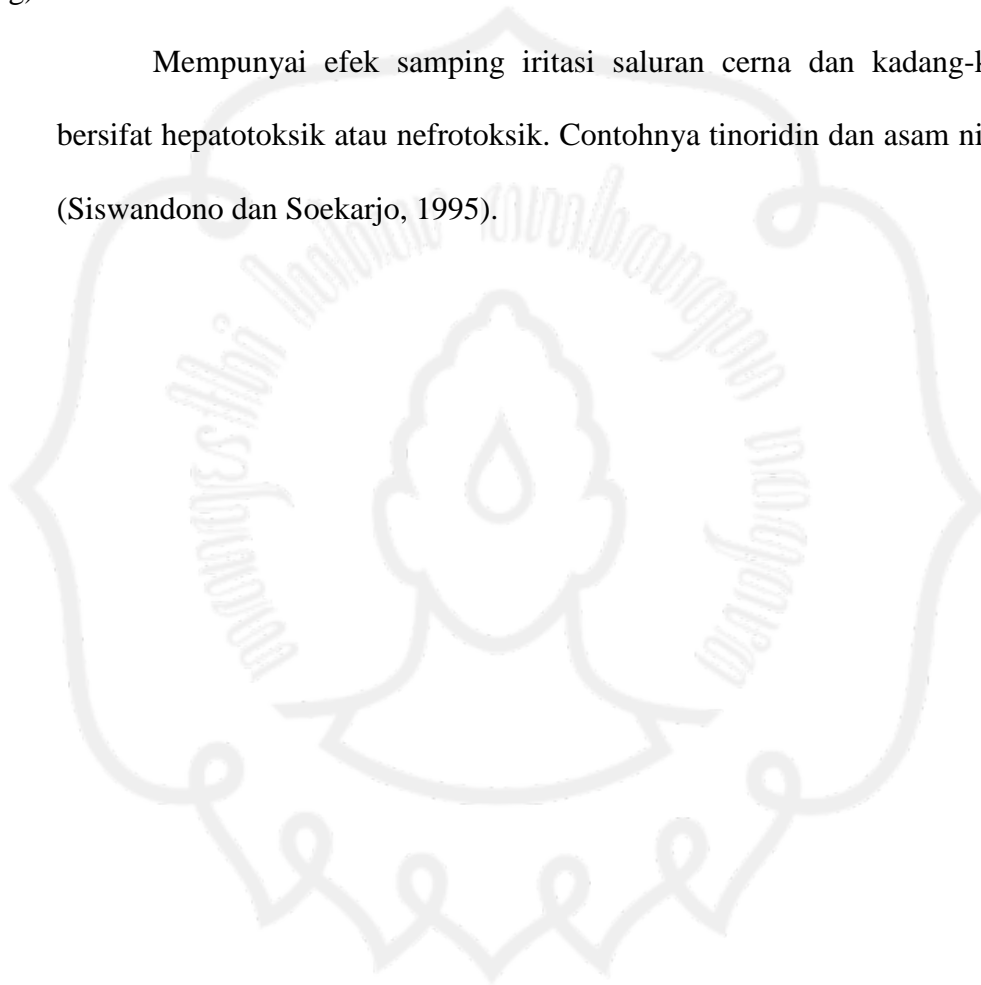
Turunan ini mempunyai aktivitas analgesik dan antiinflamasi yang tinggi, namun mempunyai efek samping iritasi saluran cerna yang cukup besar. Contohnya diklofenak, ibuprofen, dan ketoprofen.

f) Turunan oksikam

Turunan ini pada umumnya bersifat asam, mempunyai efek analgesik-antipiretik dan antiinflamasi. Contohnya piroksikam, tenoksikam, dan isoksikam.

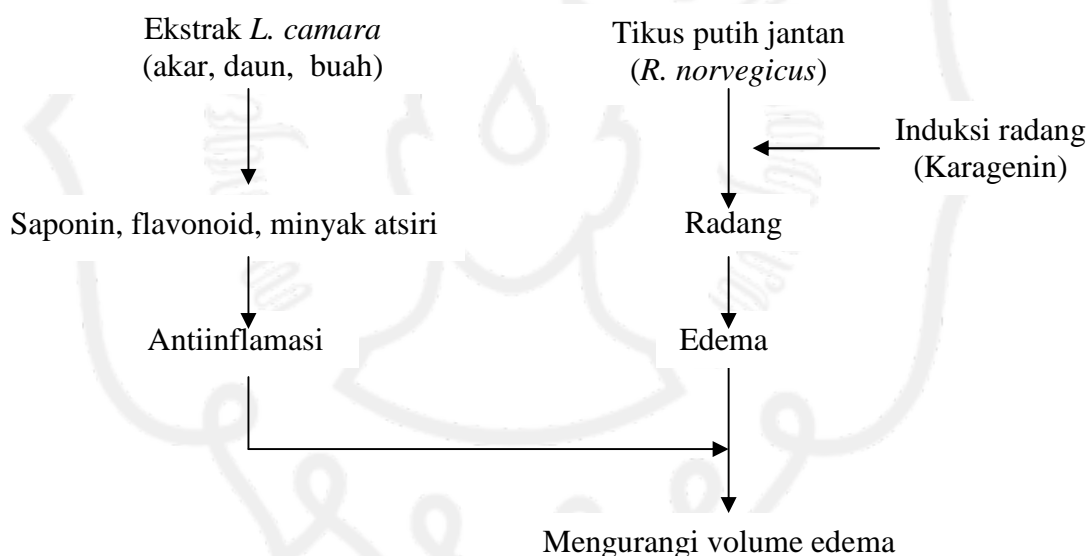
g) Turunan lain-lain

Mempunyai efek samping iritasi saluran cerna dan kadang-kadang bersifat hepatotoksik atau nefrotoksik. Contohnya tinoridin dan asam niflumet (Siswandono dan Soekarjo, 1995).



B. Kerangka Pemikiran

Inflamasi (radang) merupakan respons terhadap kerusakan jaringan yang diakibatkan oleh rangsang fisik atau kimiawi. Rangsang tadi menyebabkan timbulnya reaksi radang seperti edema, panas, rasa nyeri, warna merah, dan gangguan fungsi pada jaringan yang meradang. Pemberian karagenin sebagai induktor peradangan secara subplantar akan menimbulkan edema pada kaki tikus. Pemberian ekstrak etanol *L. camara* yang diduga mengandung saponin, flavonoid, dan minyak atsiri yang memiliki efek antiinflamasi akan mengurangi volume radang. Skema kerangka pemikiran disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Skema Kerangka Pemikiran

C. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Terdapat variasi kandungan saponin, flavonoid, dan minyak atsiri pada akar, daun, dan buah *L. camara*
2. Ekstrak etanol *L. camara* mempunyai efek antiinflamasi terhadap tikus putih (*R. norvegicus*) jantan.



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juli-Oktober 2005 di sub Laboratorium Biologi Laboratorium MIPA Pusat UNS Surakarta, Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu-Universitas Gadjah Mada (LPPT-UGM) Yogyakarta dan Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi UGM Yogyakarta.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

a. Alat untuk Analisis Kandungan Saponin

Alat-alat yang digunakan adalah timbangan analitik, *hot plate*, gelas beker, vortex, *stopwatch*, tabung reaksi, kertas saring, corong Buchner, dan spektrofotometer UV-Vis.

b. Alat untuk Analisis Kandungan Flavonoid dan Minyak Atsiri

Alat-alat yang digunakan adalah tabung eppendorf, evaporator, mikropipet, perkolator, vortex, sentrifus, jarum injeksi, lempeng silika gel_{GF254}, spektrodensitometer C 5 930, dan TLC Scanner (Shimadzu, Japan).

(Lampiran 1)

c. Alat untuk Pembuatan Ekstrak

Alat-alat yang digunakan adalah timbangan analitik, pisau, blender, kertas saring, gelas ukur, gelas beker, corong Buchner, pipet ukur, pipet volume, oven, dan *rotary evaporator*.

d. Alat untuk Uji Antiinflamasi

Alat yang digunakan adalah kandang tikus lengkap dengan tempat makan dan minum, *canule* untuk pemberian perlakuan secara oral, *sprit* injeksi untuk pemberian perlakuan secara injeksi, gelas ukur untuk mengukur volume larutan yang akan diberikan kepada hewan uji, *stopwatch*, dan pletismometer air raksa (Lampiran 2).

2. Bahan

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan galur Wistar sebanyak 25 ekor dengan umur dua bulan dan berat badan 160-180 gram, yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu - Layanan Penelitian Pra-Klinik dan Pengembangan Hewan Percobaan (LPPT-LP3HP) UGM Yogyakarta. Bahan tanaman *Lantana camara* L. (Lampiran 3) diperoleh di Desa Kalisoro, Kecamatan Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar pada bulan Juni 2005. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain akuades, etanol, saponin (Merck.), metanol, toluen, etil asetat, dietilamin, amoniak, heksan, vanilin-asam sulfat, CMC 0,5%, dan larutan fisiologis (NaCl 0,9%). Sebagai induktor peradangan digunakan χ karagenin tipe I yang diperoleh dari Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Sebagai pembanding dalam uji antiinflamasi digunakan Na-diklofenak yang diperoleh dari PT. Ifars Pharmaceutical Laboratories Surakarta.

C. Cara Kerja

1. Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan berupa Rancangan Acak Lengkap pola searah dengan lima macam perlakuan, masing-masing perlakuan lima ulangan.

2. Persiapan Hewan Uji

Semua hewan uji dipelihara dalam kondisi yang sama, sebelum digunakan tikus diadaptasikan dengan lingkungan penelitian selama satu minggu dan sebelum pemberian perlakuan, tikus dipuaskan 18 jam dengan tetap diberi minum.

3. Analisis Kandungan Saponin

Untuk mengetahui ada tidaknya saponin dilakukan uji pendahuluan. Sampel berupa serbuk halus kering dari akar, daun, dan buah yang akan dianalisis masing-masing dilarutkan dalam akuades sambil dikocok kuat-kuat selama 1 menit. Adanya saponin ditunjukkan dengan adanya busa yang stabil selama 30 menit (Harborne, 1996). Selanjutnya, analisis kandungan saponin pada akar, daun, dan buah *L. camara* dilakukan dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Sampel berupa serbuk halus kering dari akar, daun, dan buah yang akan dianalisis ditimbang sebanyak 0,1 gram dan masing-masing diekstraksi dengan 1 mL etanol 70% di atas penangas air pada suhu 80°C selama 15 menit. Hasil ekstraksi lalu diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ 365 nm, dengan menggunakan saponin Merck sebagai larutan standar

(Stahl, 1985). Penghitungan kandungan saponin menggunakan rumus Wardani (2003) sebagai berikut:

$$\text{Kandungan saponin (mg/g)} = \frac{\text{konsentrasi saponin (mg/L)} \times \text{volume etanol (L)}}{\text{banyaknya serbuk kering yang digunakan (g)}}$$

4. Analisis Kandungan Flavonoid

Perbandingan kandungan flavonoid pada organ akar, daun, dan buah dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) metode densitometri. Sampel berupa serbuk halus kering dari akar, daun, dan buah masing-masing ditimbang sebanyak 50 mg, dimasukkan ke dalam tabung eppendorf kemudian ditambahkan 2 mL metanol dan divortex selama 2 menit. Larutan yang diperoleh kemudian disentrifus sehingga diperoleh fase cair dan residu. Fase cair dipekatkan dengan menguapkan pelarut kemudian ditambahkan lagi 0,25 mL metanol dan divortex selama 2 menit. Filtrat sampel halus ditotolkan sebanyak 1 μ L pada lempeng silika gel GF₂₅₄ dengan fase gerak toluen : etil asetat : dietilamin (70:20:10). Pereaksi warna yang digunakan adalah pereaksi amoniak. Warna yang timbul diamati. Reaksi positif apabila terjadi warna kuning (Wagner *et al.*, 1984). Hasil kromatografi ini kemudian dianalisis kuantitatifnya dengan menggunakan spektrodensitometer yaitu C 5 930 Scanner (Shimadzu, Japan) pada panjang gelombang 255 nm. Hasil yang didapatkan berupa luas area serapan yang menunjukkan besarnya kepekatan flavonoid antara akar, daun, dan buah.

5. Analisis Kandungan Minyak Atsiri

Perbandingan kandungan minyak atsiri pada organ akar, daun, dan buah dianalisis dengan menggunakan KLT metode densitometri. Sampel berupa serbuk halus kering dari akar, daun, dan buah masing-masing sebanyak 50 mg diekstraksi secara perkolasi dengan pelarut heksan sebanyak 2 mL kemudian dipekatkan. Filtrat ditotolkan sebanyak 1 μ L pada lempeng silika gel GF₂₅₄ dengan fase gerak toluen : etil asetat (93:7). Keberadaan spot minyak atsiri dideteksi dengan pereaksi vanilin asam sulfat yang akan memberikan warna merah (Wagner *et al.*, 1984). Spot minyak atsiri kemudian dianalisis kuantitatifnya dengan menggunakan spektrodensitometer yaitu C 5 930 Scanner (Shimadzu, Japan) pada panjang gelombang 255 nm. Hasil yang didapatkan berupa luas area serapan yang menunjukkan besarnya kepekatan minyak atsiri antara akar, daun, dan buah.

6. Pembuatan Ekstrak

Bagian tanaman yang digunakan untuk pembuatan ekstrak adalah daun karena mengandung saponin, flavonoid, dan minyak atsiri yang tertinggi. Sampel dibersihkan dan dikeringanginkan di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam sampai kering. Sampel yang telah kering dipotong kecil-kecil dan dihaluskan dengan menggunakan blender. Serbuk yang telah halus dimaserasi dalam etanol 70% selama 3 hari, lalu difiltrasi dengan corong Buchner dan diperoleh filtrat. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu maksimal 60°C. Untuk perlakuan, ekstrak lembek yang diperoleh dari proses ini disuspensikan dalam larutan CMC 0,5%.

7. Perlakuan terhadap Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan 25 tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan yang terbagi dalam lima kelompok perlakuan. Setiap kelompok terdiri dari lima tikus sebagai ulangan. Metode uji yang digunakan adalah metode Winter yang dimodifikasi (Turner, 1965), edema buatan ditimbulkan dengan menginjeksikan karagenin 1% yang dilarutkan dalam larutan fisiologis, sebanyak 0,1 mL pada kaki tikus secara subplantar. Rakhmawati (1997) mengatakan bahwa pada dosis tersebut sudah dapat menimbulkan edema yang dapat teramati secara jelas. Bahan uji yang diberikan adalah ekstrak dari organ *L. camara* yang memiliki kandungan saponin, flavonoid, dan minyak atsiri yang tertinggi. Penentuan dosis dan waktu pemberian ekstrak mengacu pada uji pendahuluan (Lampiran 4). Perlakuan yang diberikan pada masing-masing kelompok adalah sebagai berikut:

- I. Kontrol negatif CMC 0,5% (plasebo)
- II. Kontrol positif Na-diklofenak 13,5 mg/kg BB
- III. Ekstrak etanol *L. camara* 720 mg/kg BB
- IV. Ekstrak etanol *L. camara* 1080 mg/kg BB
- V. Ekstrak etanol *L. camara* 1440 mg/kg BB

Volume awal kaki tikus diukur sebelum diberi perlakuan, dengan menggunakan pletismometer, dengan cara telapak kaki tikus yang telah ditandai sebatas mata kaki dimasukkan (sampai tanda) pada pletismometer (Lampiran 5). Setelah semua mendapat perlakuan, pengukuran dilakukan lagi pada menit ke-0, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 dan 300. Volume radang merupakan selisih volume kaki tikus setelah disuntik larutan karagenin 1% dengan volume

kaki tikus sebelum disuntik larutan karagenin. Persentase radang setiap waktu ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Persentase radang} = \frac{(U_t - U_o)}{U_o} \times 100\%$$

(Mansjoer, 1997)

Keterangan: U_t = volume telapak kaki tikus pada waktu t
 U_o = volume telapak kaki tikus sebelum injeksi karagenin

Setelah diperoleh kurva persentase radang terhadap waktu, dicari AUC (*Area Under Curve*/ luas daerah di bawah kurva)₀₋₃₀₀ setiap individu dengan rumus:

$$AUC_{0-300} = \frac{U_0 + U_{15}}{2} (t_{15} - t_0) + \frac{U_{15} + U_{30}}{2} (t_{30} - t_{15}) + \dots + \frac{U_{270} + U_{300}}{2} (t_{300} - t_{270})$$

Selanjutnya dari harga AUC_{0-300} pada masing-masing kelompok dapat dihitung nilai persentase daya antiinflamasi dengan rumus:

$$\text{Daya antiinflamasi} = \frac{(AUC_K - AUC_P)}{AUC_K} \times 100\%$$

Keterangan: AUC_K = luas daerah di bawah kurva persentase radang terhadap waktu kelompok kontrol negatif rata-rata

AUC_P = luas daerah di bawah kurva persentase radang terhadap waktu kelompok perlakuan rata-rata

(A'yunin, 2004)

D. Analisis Data

Untuk mengetahui variasi kandungan metabolit sekunder pada *L. camara*, data berupa kandungan saponin, flavonoid, dan minyak atsiri pada akar, daun, dan buah *L. camara* dianalisis dengan program pengolah data SPSS Versi 10.0 dengan menggunakan Analisis Varians (ANOVA) satu arah dan dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Square Difference*) pada taraf signifikansi 95% (Gill, 1978).

Untuk menentukan organ yang memiliki kandungan saponin, flavonoid, dan minyak atsiri tertinggi, data berupa kandungan saponin, flavonoid, dan minyak atsiri pada akar, daun, dan buah *L. camara* dianalisis secara deskriptif. Organ yang memiliki kandungan saponin, flavonoid, dan minyak atsiri tertinggi selanjutnya digunakan dalam uji antiinflamasi pada tikus.

Untuk menentukan kelompok perlakuan yang memiliki daya antiinflamasi paling optimal, data kuantitatif AUC antar kelompok perlakuan dianalisis dengan program pengolah data SPSS Versi 10.0 dengan menggunakan Analisis Varians (ANOVA) satu arah dan dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Square Difference*) pada taraf signifikansi 95% (Gill, 1978). Hasil analisis statistik AUC antar kelompok perlakuan disajikan pada Lampiran 6.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Analisis Kandungan Saponin, Flavonoid, dan Minyak Atsiri

Saponin diketahui banyak terakumulasi dalam dinding sel dan vakuola. Adanya saponin pada tumbuhan ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang mantap pada waktu ekstraksi atau pada waktu pemekatan ekstrak tumbuhan. Uji saponin yang sederhana adalah dengan mengocok ekstrak etanol dari daun *Lantana camara* L. dalam tabung reaksi dan memperhatikan apakah terbentuk busa tahan lama pada permukaan cairan (Harborne, 1996). Uji pendahuluan kandungan saponin menunjukkan adanya busa stabil baik pada akar, daun maupun buah. Analisis kandungan saponin selanjutnya dilakukan secara spektrofotometri. Hasil analisis kandungan saponin disajikan pada Tabel 1 dan Lampiran 7.

Tabel 1. Kandungan Saponin (mg/g) pada Akar, Daun, dan Buah *L. camara*

Organ	Rerata
Akar	12,57 ^a
Daun	66,22 ^b
Buah	6,95 ^a

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata dengan daun ($p \leq 0,05$).

Secara umum seluruh bahan uji yang berupa akar, daun, dan buah *L. camara* mengandung saponin dengan kadar yang bervariasi. Setelah dianalisis secara statistik menggunakan ANAVA dan uji LSD dapat diketahui bahwa kandungan saponin pada daun berbeda nyata dibandingkan dengan kandungan saponin pada akar dan buah, yang masing-masing mengandung saponin sebesar

12,57 dan 6,95 mg/g. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa daun memiliki kandungan saponin tertinggi yaitu sebesar 66,22 mg/g.

Adanya kandungan flavonoid dalam *L. camara* dideteksi dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan pereaksi warna amoniak karena flavonoid merupakan senyawa fenol yang akan berubah warnanya jika ditambahkan amoniak (Harborne, 1987). Metode densitometri selanjutnya digunakan untuk membandingkan luas area serapan pada ketiga organ karena tidak tersedianya larutan standar untuk menentukan kadar flavonoid dalam secara akurat. Persentase luas area serapan flavonoid pada akar, daun, dan buah *L. camara* disajikan pada Tabel 2 dan Lampiran 7.

Tabel 2. Persentase Luas Area Serapan Flavonoid pada Akar, Daun, dan Buah *L. camara*

Organ	Rerata
Akar	6,78% ^a
Daun	12,76% ^b
Buah	1,41% ^a

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata dengan daun ($p \leq 0,05$).

Seluruh bahan yang diuji mengandung flavonoid (Tabel 2). Kandungan flavonoid *L. camara* dalam organ akar, daun, dan buah berbeda-beda. Daun memiliki kandungan flavonoid tertinggi yang ditunjukkan oleh persentase luas area serapan sebesar 12,76%. Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan ANAVA dan uji LSD, kandungan flavonoid pada daun berbeda secara nyata jika dibandingkan dengan kandungan flavonoid pada akar dan buah.

Untuk analisis minyak atsiri, akar, daun, dan buah *L. camara* diekstraksi dengan menggunakan pelarut atsiri seperti heksana agar tidak terjadi pelebaran pita (Hostettmann *et al.*, 1995). Selanjutnya, keberadaan minyak atsiri pada akar, daun, dan buah *L. camara* dideteksi dengan menggunakan KLT dan dilanjutkan dengan membandingkan luas area serapan minyak atsiri pada masing-masing organ tumbuhan menggunakan metode densitometri. Spot dari akar, daun, dan buah memberikan warna merah dengan pereaksi vanilin-asam sulfat. Hasil analisis kandungan minyak atsiri disajikan pada Tabel 3 dan Lampiran 7.

Tabel 3. Persentase Luas Area Serapan Minyak Atsiri pada Akar, Daun, dan Buah *L. camara*

Organ	Rerata
Akar	0,00 % ^a
Daun	14,49% ^b
Buah	1,29% ^a

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata dengan daun ($p \leq 0,05$).

Seluruh bahan yang diuji mengandung minyak atsiri namun area pada akar tidak terbaca oleh spektrodensitometer. Hal ini diduga karena kandungan minyak atsiri pada akar sangat sedikit. Persentase luas area serapan minyak atsiri yang tertinggi ditemukan pada daun yaitu sebesar 14,49%, yang berdasarkan hasil analisis secara statistik menggunakan ANAVA dan uji LSD menunjukkan perbedaan secara nyata jika dibandingkan dengan buah (1,29%) dan akar (tidak terbaca). Adanya perbedaan kandungan minyak atsiri pada akar, daun, dan buah *L. camara* mendukung pernyataan Setyawan (1996) yang mengatakan bahwa kadar minyak atsiri pada tumbuhan ditentukan oleh organ asalnya.

B. Penentuan Organ Tumbuhan untuk Perlakuan

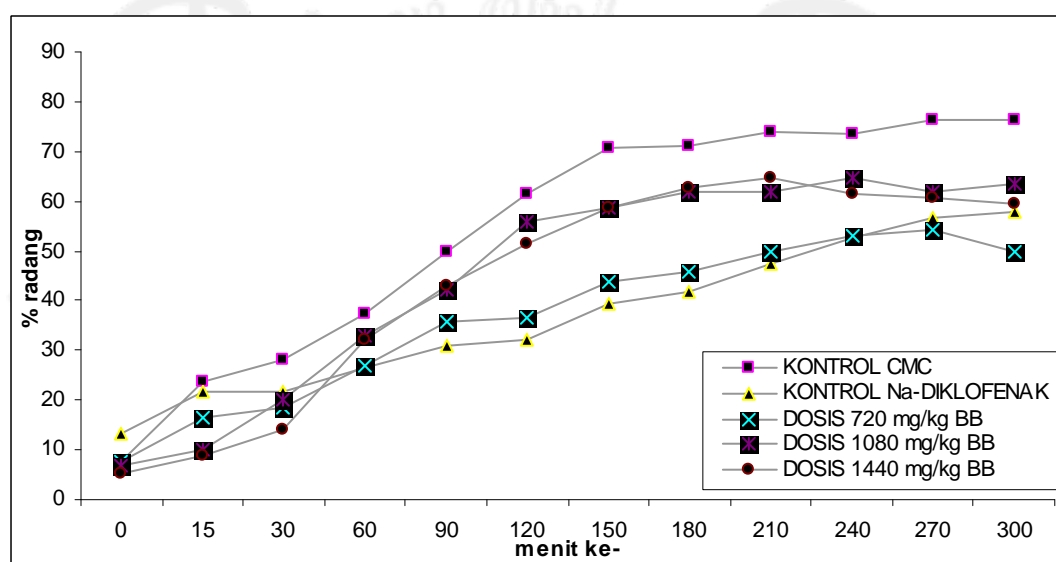
Berdasarkan hasil analisis secara statistik menggunakan ANAVA dan dilanjutkan dengan uji LSD, daun memiliki kandungan saponin, flavonoid, dan minyak atsiri yang tertinggi dan berbeda secara nyata dibandingkan dengan akar dan buah. Jika dikaitkan dengan kandungan metabolit sekunder tersebut, maka daun memiliki kandungan kimia yang paling optimal untuk aktivitas antiinflamasi dibandingkan dengan akar dan buah, karena memiliki kandungan saponin, flavonoid, dan minyak atsiri yang tertinggi. Oleh sebab itu daun pada penelitian ini dipilih untuk pengujian selanjutnya.

C. Uji Antiinflamasi

Uji antiinflamasi ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh antiinflamasi ekstrak etanol *L. camara* terhadap tikus putih jantan. Edema pada kaki belakang yang diinduksi karagenin adalah model standar percobaan inflamasi akut (Chakraborty *et al.*, 2004). Sedgwick dan Willoughby (1994) mengatakan bahwa keuntungan metode Winter ini adalah mudah dan membutuhkan biaya yang sedikit.

Karagenin adalah polimer linear yang tersusun dari sekitar 25.000 turunan galaktosa yang strukturnya tergantung pada sumber dan kondisi ekstraksi. Karagenin dikelompokkan menjadi 3 kelompok utama yaitu *kappa*, *iota*, dan *lambda* karagenin. Karagenin lambda (λ karagenin) adalah karagenin yang diisolasi dari ganggang *Gigartina pistillata* atau *Chondrus crispus*, yang dapat larut dalam air dingin (Chaplin, 2005). Karagenin dipilih untuk menguji obat

antiinflamasi karena tidak bersifat antigenik dan tidak menimbulkan efek sistemik (Chakraborty *et al.*, 2004). Pengukuran daya antiinflamasi dilakukan dengan cara melihat kemampuan *L. camara* dalam mengurangi pembengkakan kaki hewan percobaan akibat penyuntikan larutan karagenin 1%. Setelah disuntik karagenin, tikus-tikus memperlihatkan adanya pembengkakan dan kemerahan pada kaki serta tikus tidak dapat berjalan lincah seperti sebelum injeksi (Lampiran 8). Hasil pengukuran persentase radang disajikan pada Gambar 4 dan Lampiran 9.



Gambar 4. Kurva Persentase Radang pada Kaki Tikus Akibat Injeksi Karagenin terhadap Waktu

Gambar 4 menunjukkan bahwa kurva tertinggi adalah plasebo (CMC 0,5%), volume radang pada kelompok plasebo adalah yang paling besar dibandingkan dengan kelompok lainnya. Hal ini dikarenakan proses penghilangan mediator-mediator inflamasi dalam tubuh hanya terjadi secara alamiah. Kurva terendah yang menunjukkan volume radang terkecil tampak pada kurva kontrol positif Na-diklofenak. Kurva kelompok III, IV, dan V yang berturut-turut adalah dosis 720, 1080, dan 1440 mg/kg BB berada di antara kurva kelompok plasebo dan kontrol

positif. Hal ini menunjukkan bahwa volume radang lebih kecil dibandingkan plasebo namun masih lebih besar dibandingkan perlakuan Na-diklofenak. Hal ini mungkin karena tidak semua senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol daun *L. camara* memberikan aktivitas yang dapat menghambat senyawa yang menginduksi inflamasi.

Pada kelompok plasebo, injeksi karagenin subplantar menghasilkan edema lokal, yang meningkat cepat pada menit ke-15 dan terus meningkat sampai menit ke-240 dan belum menunjukkan tanda-tanda penurunan sampai pada menit ke-300 (persentase radang=76,3%). Karagenin akan menginduksi cedera sel sehingga sel yang cedera melepaskan mediator yang mengawali proses inflamasi. Setelah pelepasan mediator inflamasi, terjadi edema yang mampu bertahan selama 6 jam dan berangsur-angsur berkurang dalam waktu 24 jam setelah injeksi (Baghdikian *et al.*, 1997). Edema oleh karagenin tergantung pada peran kinin, leukosit polimorfonuklear, dan mediator-mediator inflamasi yang dilepaskan seperti PGE₁, PGE₂, dan PGA₂ (Amanlou *et al.*, 2005; Ward, 1993). Setelah injeksi karagenin, terjadi respon yang menyebabkan edema yang terbagi dalam dua fase. Fase awal berhubungan dengan pelepasan histamin dan serotonin. Antara fase I dan II, edema dipertahankan oleh kinin. Fase kedua berhubungan dengan pelepasan prostaglandin (PG) dan *Slow Reacting Substances* yang mencapai puncak pada 3 jam (Vinegar *et al.*, 1969 dalam Ammar, 2005; Chakraborty *et al.*, 2004). Turnbach *et al.* (2002) mengatakan bahwa pemberian karagenin subplantar akan meningkatkan kadar COX-2.

Pada kontrol positif (Na-diklofenak), persentase radang meningkat perlahan dan terus berlangsung sampai pada menit ke-300. Persentase radang kelompok perlakuan dengan Na-diklofenak lebih kecil jika dibandingkan dengan plasebo. AINS seperti Na-diklofenak diduga dapat menekan respon pada fase akhir, yang juga disebut fase PG, karena kemampuan menekan migrasi leukosit mononuklear ke jaringan radang (DiRosa dan Willoughby, 1971 dalam Ammar, 2005).

Persentase radang kelompok perlakuan dosis 720 mg/kg BB lebih kecil bila dibandingkan dengan plasebo. Persentase radang ini terus meningkat dan mencapai maksimal pada menit ke-270 (sebesar 54,1%). Persentase radang kelompok perlakuan dosis 1080 mg/kg BB lebih kecil dibandingkan plasebo dan persentase radang maksimal dicapai pada menit ke-240. Pada dosis 1440 mg/kg BB, persentase radang juga lebih kecil dibandingkan plasebo dan persentase radang maksimal dicapai pada menit ke-210.

Tabel 4. Persentase Daya Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun *L. camara* pada Edema yang Diinduksi Karagenin

Kelompok Perlakuan	Dosis (mg/kg)	AUC	% Daya Antiinflamasi
Kontrol CMC 1%		74,326 ^a	
Kontrol Na-diklofenak	13,5	41,808 ^b	43,8
Ekstrak daun <i>L.camara</i>	720	45,976 ^b	38,1
Ekstrak daun <i>L.camara</i>	1080	59,224 ^a	20,3
Ekstrak daun <i>L.camara</i>	1440	62,912 ^a	15,4

Keterangan: N=5 dalam setiap kelompok; $p \leq 0,05$; Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata dengan plasebo (kontrol CMC 0,5%); AUC=Area Under Curve (luas daerah di bawah kurva)

Kemampuan suatu bahan dalam mengurangi radang pada kaki hewan uji akibat injeksi karagenin dinyatakan sebagai daya antiinflamasi. Nilai daya antiinflamasi diperoleh dengan membandingkan luas daerah bawah kurva volume radang *L. camara* dan kontrol positif dengan luas daerah bawah kurva plasebo. Luas daerah bawah kurva memberikan informasi tentang potensi *L. camara* untuk menurunkan radang apabila dibandingkan dengan plasebo. Semakin besar luas daerah bawah kurva berarti semakin besar volume radang yang ditimbulkan. Berdasarkan Tabel 4, luas daerah bawah kurva pada kelompok perlakuan ekstrak etanol daun *L. camara* masih lebih besar dibandingkan dengan Na-diklofenak. Hal ini menjelaskan bahwa daun *L. camara* memiliki potensi dalam mengurangi inflamasi namun masih kurang efektif apabila dibandingkan dengan Na-diklofenak.

Nilai AUC percobaan ini terdistribusi normal dan berasal dari populasi yang sama karena harga signifikansinya pada taraf signifikansi 95% adalah lebih besar dari 0,05. Dengan demikian data kuantitatif AUC antar kelompok perlakuan dianalisis secara statistik dengan menggunakan Analisis Varians (ANAVA) satu arah dan dengan uji LSD (*Least Square Difference*) pada taraf signifikansi 95% untuk membedakan antar kelompok (Gill, 1978).

Daya antiinflamasi yang dimiliki oleh kelompok Na-diklofenak dan ekstrak etanol daun *L. camara* dosis 720 mg/kg BB menunjukkan perbedaan nyata dibandingkan dengan plasebo. Sementara ekstrak etanol daun *L. camara* dosis 1080 dan 1440 mg/kg BB secara statistik tidak berbeda nyata dengan plasebo sehingga kurang efektif dalam menurunkan radang. Dengan demikian dapat

dikatakan bahwa dosis 720 mg/kg BB adalah yang paling optimal dalam menurunkan radang.

Dari Tabel 4 terlihat bahwa peningkatan dosis ekstrak etanol daun *L. camara* menunjukkan adanya kecenderungan penurunan daya antiinflamasi. Hal ini diduga berhubungan dengan efek toksik yang dimiliki *L. camara* seperti halnya yang dimiliki bahan-bahan lain yang berfungsi sebagai obat. Setiap bahan dapat berfungsi sebagai obat jika diberikan dalam dosis tertentu namun bisa menjadi racun yang membahayakan apabila diberikan dalam dosis yang melebihi batas yang diperbolehkan. Batasan dosis yang diperbolehkan untuk *L. camara* atau yang biasa diistilahkan dengan ADI (*Allowance Dosage Intake*) sejauh ini masih belum diketahui sehubungan dengan belum adanya penelitian khusus tentang ADI untuk *L. camara*.

Ekstrak etanol daun *L. camara* dosis 720 mg/kg BB memiliki daya antiinflamasi yang paling optimal bila dibandingkan dengan kelompok dosis lain dan secara statistik tidak berbeda nyata dengan Na-diklofenak (Lampiran 6). Mekanisme antiinflamasinya dikarenakan penghambatan pelepasan PG dan mediator-mediator serupa. Hal ini juga mungkin berhubungan dengan kehadiran saponin, flavonoid, dan minyak atsiri yang terdapat di dalam ekstrak etanol daun *L. camara* yang bekerja melalui mekanisme sebagai berikut.

1. Kandungan Saponin

Aktivitas antiinflamasi saponin dari berbagai tumbuhan sudah banyak dilaporkan namun belum banyak yang diketahui tentang mekanisme antiinflamasi yang dilakukan oleh saponin secara pasti. Saponin terdiri dari

steroid atau gugus triterpen (aglikon) yang mempunyai aksi seperti detergen. Mekanisme antiinflamasi yang paling mungkin adalah diduga saponin juga mampu berinteraksi dengan banyak membran lipid (Nutritional Therapeutics, 2003) seperti fosfolipid yang merupakan prekursor Prostaglandin dan mediator-mediator inflamasi lainnya.

2. Kandungan Flavonoid

Mekanisme antiinflamasi yang dilakukan oleh flavonoid dapat melalui beberapa jalur yaitu

a. Penghambatan aktivitas enzim COX dan/atau lipooksigenase

Aktivitas antiinflamasi flavonoid dilaporkan oleh Pearson (2005), Landolfi *et al.* (1984) dalam Nijveldt *et al.* (2001), dan Robak dan Gryglewski (1996) karena penghambatan COX atau lipooksigenase. Penghambatan jalur COX dan lipooksigenase ini secara langsung juga menyebabkan penghambatan biosintesis eikosanoid (Damas *et al.*, 1985 dalam Nijveldt *et al.*, 2001) dan leukotrien (Mueller, 2005), yang merupakan produk akhir dari jalur COX dan lipooksigenase.

b. Penghambatan akumulasi leukosit

Ferrandiz dan Alcaraz (1991) mengemukakan bahwa efek antiinflamasi flavonoid dapat disebabkan oleh aksinya dalam menghambat akumulasi leukosit di daerah inflamasi. Menurut Frieseneker *et al.* (1994) dalam Nijveldt *et al.* (2001), pada kondisi normal leukosit bergerak bebas sepanjang dinding endotel. Namun selama inflamasi, berbagai mediator turunan endotel dan faktor komplemen mungkin

menyebabkan adhesi leukosit ke dinding endotel sehingga menyebabkan leukosit menjadi immobil dan menstimulasi degranulasi netrofil. Frieseneker *et al.* (1994) dalam Nijveldt *et al.* (2001) menyebutkan bahwa pemberian flavonoid dapat menurunkan jumlah leukosit immobil dan mengurangi aktivasi komplemen sehingga menurunkan adhesi leukosit ke endotel dan mengakibatkan penurunan respon inflamasi tubuh.

c. Penghambatan degranulasi netrofil

Tordera *et al.* (1994) dalam Nijveldt *et al.* (2001) menduga bahwa flavonoid dapat menghambat degranulasi netrofil, sehingga secara langsung mengurangi pelepasan asam arakhidonat oleh netrofil.

d. Penghambatan pelepasan histamin

Efek antiinflamasi flavonoid didukung oleh aksinya sebagai antihistamin. Histamin adalah salah satu mediator inflamasi yang pelepasannya distimulasi oleh pemompaan kalsium ke dalam sel. Amella *et al.* (1985) dalam Nijveldt *et al.* (2001) melaporkan bahwa flavonoid dapat menghambat pelepasan histamin dari sel mast. Walaupun mekanisme yang tepat belum diketahui namun Mueller (2005) menduga bahwa flavonoid dapat menghambat enzim c-AMP fosfodiesterase sehingga kadar c-AMP dalam sel mast meningkat, dengan demikian kalsium dicegah masuk ke dalam sel yang berarti juga mencegah pelepasan histamin (Gomperts *et al.*, 1983).

e. Penstabil *Reactive Oxygen Species* (ROS)

Efek flavonoid sebagai antioksidan secara tidak langsung juga mendukung efek antiinflamasi flavonoid. Adanya radikal bebas dapat menarik berbagai mediator inflamasi (Halliwell, 1995 dalam Nijveldt *et al.*, 2001). Korkina (1997) dalam Nijveldt *et al.* (2001) menambahkan bahwa flavonoid dapat menstabilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan bereaksi dengan senyawa reaktif dari radikal sehingga radikal menjadi inaktif.

3. Kandungan Minyak Atsiri

Minyak atsiri daun *L. camara* mengandung eugenol dan beberapa senyawa terpen yang diduga memiliki efek antiinflamasi. Eugenol yang merupakan penyusun minyak atsiri *L. camara* dilaporkan dapat menghambat agregasi platelet dengan cara menghambat pembentukan tromboksan sehingga juga berperan dalam efek antiinflamasi (Srivastava, 1993). Selain itu, eugenol juga dapat menghambat aktivitas PGH sintase karena berkompetisi dengan asam arakhidonat pada sisi aktif PGH sintase sehingga menghambat pembentukan PG (Thompson dan Eling, 1989). Seskuiterpen dilaporkan Heras *et al.* (1999) dapat menghambat inflamasi dengan menghambat beberapa faktor transkripsi yang berperan dalam pengaturan ekspresi gen yang terlibat dalam respon inflamasi. Namun seperti halnya saponin, mekanisme yang pasti tentang aktivitas antiinflamasi minyak atsiri juga belum banyak diketahui.