

Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etil Asetat Daun Tumbuhan Akar Kaik-Kaik (*Uncaria cordata* (Lour.) Merr) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan

Noveri Rahmawati¹, Dewi Gulya Hari¹, Nurbaiti¹, Ayu Rahmawati, Nursyafni, Lusi Indriani¹, Tri Nova Lovena¹, Muhammad Arif¹, Nofri Hendri Sandi²

¹ Fakultas MIPA dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Riau

² Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau

ARTICLE INFORMATION

Received: April, 10, 2023

Revised: June, 2023

Available online: June, 30, 2023

KEYWORDS/KATA KUNCI

Antiinflammatory, *Uncaria cordata* (Lour.) Merr, white male rats (*Rattus norvegicus*).

CORRESPONDENCE

E-mail:

noverirahmawati@umri.ac.id

A B S T R A C T

Antiinflammatory activity of ethyl acetate extracts of the leaves of plant Akar Kaik-kaik Uncaria cordata (Lour.) Merr on white male rats. This research examined the quality of crude drugs and extracts ethyl acetate. It is intended to obtain raw materials which can ultimately ensure uniform pharmacologic effect. Antiinflammatory activity of the ethyl acetate extract were tested using the method of paw edema against white male rats. The research were 15 rats male which divided into 5 groups. Negative control (Na CMC 1%), positive control (Na diklofenak dose 4,5 mg/kgBB) and extract group ethyl acetate with the dose 100, 200 and 400 mg/kgBB given orally. The volume measurement after subcutaneous injection caragen 1% performed with one hour interval for 5 hours assessing with pletysmometer and calculated the inhibition persen. The result of this study showed that the quality of crude drugs and extract ethyl acetate meet the specified requirements Indonesian Herbal Pharmacopoeia. Ethyl acetate extract has significant anti-inflammatory effects to the negative control at doses of 200 and 400 mg/kgBB while against the positive control did not differ significantly white male rats.

INTRODUCTION

Indonesia kaya akan berbagai jenis tumbuhan obat yang banyak digunakan untuk pengobatan oleh masyarakat zaman dahulu sampai sekarang. Salah satu tumbuhan obat yang digunakan masyarakat di beberapa negara tropis ialah tumbuhan genus *Uncaria*. Banyak spesies dari genus *Uncaria* telah digunakan untuk mengobati spasmolitik, analgetik, hipertensi, kanker, arthritis,

diabetes, antioksidan dan inflamasi (Sun *et al*, 2012).

Beberapa penelitian yang telah dilakukan terhadap genus *Uncaria*, diantaranya oleh Rojas *et al* pada tahun 2012 yang menguji aktivitas antiinflamasi dari *Uncaria tomentosa* yang menunjukkan bahwa alkaloid oksindol pentasiklik yaitu *mitraphyllin* mempunyai peran penting dalam menghambat proses peradangan yang kerjanya mirip dengan deksametason. Pada

penelitian lain oleh Carvalho *et al* pada tahun 2006 menunjukkan *Uncaria guianensis* mengandung alkaloid, flavonoid, asam karboksilat serta fenol dan dilaporkan juga dapat menghambat udem kaki tikus yang diinduksi Zymosan® 200 mg.

Spesies lain dari genus *Uncaria* yang belum banyak digali bioaktivitasnya adalah daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr. Berdasarkan uji fitokimia ekstrak etil asetat yang telah dilakukan, kandungan senyawa yang terdeteksi adalah steroid, terpenoid dan saponin. Senyawa steroid diketahui memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi melalui mekanisme penghambatan enzim phospholipase (Harborne, 1987). Selain itu, senyawa steroid ini mengganggu pembentukan asam arakhidonat yang merupakan mediator peradangan (Rustam dkk, 2007).

Berdasarkan uraian di atas peneliti tertarik untuk melakukan pemeriksaan kualitas simplisia dan ekstrak serta uji aktivitas antiinflamasi dari ekstrak etil asetat daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dengan menggunakan metode *paw edema*.

Pengambilan dan Identifikasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr yang diambil di Hutan Larangan Adat Rumbio Kabupaten Kampar Provinsi Riau sebanyak 5 kg daun segar. Identifikasi tumbuhan dari daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr dilakukan di Herbarium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Jurusan Biologi Universitas Andalas Padang, Sumatera Barat.

Pembuatan Simplisia dan Pemeriksaan Kualitas Simplisia

Daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr yang telah diperoleh, dilakukan sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, dan sortasi kering. Pemeriksaan kualitas meliputi

pemerian, profil kromatografi lapis tipis, kadar air, susut pengeringan dan kadar abu.

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara ekstraksi bertingkat dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan etanol kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator*.

Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etil Asetat Daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr Persiapan Hewan Uji

Hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari untuk mengadaptasikan dengan lingkungan percobaan. Hewan dinyatakan sehat apabila hewan tersebut selama pemeliharaan tidak mengalami penyimpangan berat badan lebih dari 10% dan secara visual memperlihatkan perilaku normal (Vogel, 2002).

Perencanaan Dosis

Pada penelitian ini digunakan ekstrak etil asetat daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr dengan dosis 100, 200 dan 400 mg/kg BB terhadap tikus putih jantan. Kontrol positif digunakan natrium diklofenak yang diberikan berdasarkan dosis lazim yang digunakan pada manusia yaitu 50 mg. Dosis tersebut dikonversikan ke tikus dengan perhitungan : $50 \text{ mg} \times 0,01 = 0,9 \text{ mg}/0,2 \text{ kgBB} = 4,5 \text{ mg/kgBB}$

Suspensi Na CMC 1% sebagai kontrol negatif diberikan secara oral. Volume penyuntikan 1% dari berat badan hewan. Volume suspensi senyawa uji yang diberikan secara oral pada hewan uji dihitung berdasarkan rumus *Mallone* (Thompson, 1985).

$$\text{VAO (mL)} = \frac{\text{Dosis (mg/kgBB)} \times \text{BB (kg)}}{\text{Konsentrasi obat (mg/mL)}}$$

Pembuatan Suspensi Na CMC 1%

Sebanyak 0,1 gram Na CMC ditaburkan merata ke dalam lumpang panas yang telah berisi aquades panas sebanyak 20 kali berat Na CMC. Diamkan selama 5 menit hingga diperoleh masa yang transparan, digerus

hingga terbentuk masa gel kemudian diencerkan dengan sedikit aquades, dimasukkan ke dalam vial, lalu ditambahkan aquades sampai tanda batas 10 mL.

Pembuatan Suspensi Diklofenak Dosis 4,5 mg/kgBB

Sebanyak 0,1 gram Na CMC ditaburkan merata ke dalam lumpang panas yang telah berisi aquades panas sebanyak 20 kali berat Na CMC. Diamkan selama 5 menit hingga diperoleh masa yang transparan, digerus hingga terbentuk masa gel, taburkan 4,5 mg natrium diklofenak yang telah ditimbang lalu gerus sampai homogen kemudian diencerkan dengan aquades dimasukkan ke dalam vial, lalu ditambahkan aquades sampai tanda batas 10 mL.

Pembuatan Suspensi Ekstrak Dosis 100, 200 dan 400 mg/kgBB

Ekstrak etil asetat daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr disuspensikan dengan Na CMC dalam aquades, mula-mula Na CMC ditimbang sebanyak 0,1 gram kemudian ditaburkan di atas aquades panas di dalam lumpang panas, dimana air yang digunakan sebanyak 20 kali berat Na CMC. Biarkan selama 5 menit hingga Na CMC mengembang lalu digerus homogen. Kemudian dimasukkan ekstrak etil asetat daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr sedikit demi sedikit ke dalam lumpang sambil digerus sampai homogen lalu masukkan ke dalam vial, lalu ditambahkan aquades sampai tanda batas 10 mL.

Pembuatan Larutan Penginduksi

Karagen ditimbang sebanyak 0,1 gram lalu dilarutkan dengan NaCl fisiologis dalam *beaker glass* sampai homogen kemudian dimasukkan ke dalam vial, tambahkan NaCl fisiologis sampai tanda batas 10 mL hingga diperoleh konsentrasi karagen 1%.

Pemberian Ekstrak Etil Asetat Daun *Uncaria cordata*

Hewan uji yang telah diaklimatisasi dibagi menjadi 5 kelompok percobaan dimana masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor hewan uji. Sebelum diujikan, hewan uji tersebut terlebih dahulu dipuasakan selama 18 jam, tetapi tetap diberi minum. Sebelum percobaan diukur volume awal kaki hewan uji (V_0) yang telah diberi tanda pada kaki kiri hewan uji pada sendi pergelangan kaki belakang menggunakan alat pletismometer (Ugo Basile).

Kaki kiri hewan uji dimasukkan ke dalam alat pletismometer yang berisi larutan 0,3 mg NaCl dilarutkan dalam 700 mL air yang telah disiapkan sebelumnya sampai cairan naik pada garis batas atas, kemudian dicatat angka pada monitor sebagai volume awal (V_0) yaitu volume kaki hewan uji sebelum perlakuan. Masing-masing hewan uji diberikan sediaan uji secara oral sesuai kelompok. Kelompok 1 diberikan Na CMC 1%, kelompok 2 diberikan Natrium diklofenak 4,5 mg/kgBB, kelompok 3 diberikan ekstrak etil asetat daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr yang disuspensikan dengan Na CMC 1% dengan dosis 100 mg/kg BB, kelompok 4 diberikan ekstrak etil asetat daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr yang disuspensikan dengan Na CMC 1% dengan dosis 200 mg/kg BB dan kelompok 5 diberikan ekstrak etil asetat daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr yang disuspensikan dengan Na CMC 1% dengan dosis 400 mg/kg BB.

Setelah 30 menit, setiap hewan uji diinduksi dengan karagen 1% sebanyak 0,05 mL secara subplantar dan diukur volume kaki hewan uji dengan cara mencelupkan kaki hewan uji ke dalam alat pletismometer (Ugo Basile) sampai larutan mencapai garis batas atas kemudian catat angka pada monitor. Pengukuran dilakukan setiap 1 jam selama 5 jam. Catat hasil yang diperoleh dari pengukuran. Hitung volume udem dan persen inhibisi dengan menggunakan rumus :

$$\text{Volume udem (mL)} = V_t - V_0$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{V_{Uc} - V_{Ut}}{V_{Uc}} \times 100 \%$$

Keterangan :

V_t = Volume kaki hewan uji setelah diberi karagen

V_0 = Volume kaki hewan uji sebelum diberi karagen

V_{Uc} = Udem pada kelompok kontrol negatif

V_{Ut} = Udem pada kelompok uji

Analisis Data

Data persen inhibisi yang diperoleh dianalisis menggunakan metoda statistika *Analysis of Variance* (ANOVA) dua arah dengan program SPSS dan dilanjutkan dengan Uji Tukey dengan tingkat kepercayaan 95%.

RESULT AND DISCUSSION

Penelitian yang dilakukan meliputi pemeriksaan kualitas simplisia, ekstrak etil asetat daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr (**Gambar 1**), dan uji aktifitas antiinflamasi ekstrak etil asetat. Parameter pemeriksaan kualitas yang dilakukan adalah uji organoleptik, profil kromatografi lapis tipis, kadar air, susut pengeringan dan kadar abu. Pada pemeriksaan organoleptik simplisia dan ekstrak yang meliputi bentuk, warna dan bau. Hasil pengamatan bentuk simplisia yaitu berserabut, kering, berwarna hijau kecoklatan dan berbau khas sedangkan pada ekstrak berbentuk serbuk, berwarna hijau tua dan bau khas etil asetat. Pemeriksaan ini bertujuan untuk pengenalan awal menggunakan panca indera secara sederhana dan subjektif (Anonim, 2000).



Gambar 1. Daun tumbuhan *Uncaria cordata*

Pada pemeriksaan profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) simplisia digunakan eluen *n*-heksan dan etil asetat (5:5).Simplisia dimaserasi dengan pelarut etanol. Fase diam KLT adalah silika gel GF254. Noda dilihat pada lampu UV 366 nm dan diperoleh nilai R_f berturut-turut yaitu 0,25; 0,45 dan 0,57. Pada ekstrak digunakan eluen *n*-heksan dan etil asetat (3:7) dan nilai R_f nya berturut-turut yaitu 0,5; 0,6 dan 0,75. Hasil profil KLT ini telah memperlihatkan pola pemisahan yang baik pada perbandingan eluen yang digunakan tersebut. Parameter ini bertujuan untuk memberikan gambaran awal pemisahan komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram (Stahl dan Michigan, 1985).

Pemeriksaan selanjutnya yaitu kadar air, susut pengeringan dan kadar abu. Pemeriksaan kadar air dilakukan untuk memberikan batasan (rentang) maksimal besarnya kandungan air di dalam simplisia. Kadar air simplisia diperoleh 11,66% dan kadar air ekstrak diperoleh 18,31%. Farmakope Herbal Indonesia menetapkan bahwa kadar air simplisia yaitu <14%. Dengan demikian hasil kadar air simplisia *Uncaria cordata* (Lour.) Merr memenuhi syarat yang ditetapkan dalam Farmakope Herbal Indonesia (Anonim, 2009).

Pemeriksaan susut pengeringan ini bertujuan untuk memberikan batasan maksimal besarnya senyawa yang hilang

pada saat proses pengeringan. Susut pengeringan simplisia diperoleh 8,75% dan susut pengeringan ekstrak diperoleh 19,76%. Farmakope Herbal Indonesia menetapkan bahwa susut pengeringan simplisia yaitu <10%. Dengan demikian hasil susut pengeringan simplisia *Uncaria cordata* (Lour.)Merr memenuhi syarat yang ditetapkan dalam Farmakope Herbal Indonesia (Anonim, 2009).

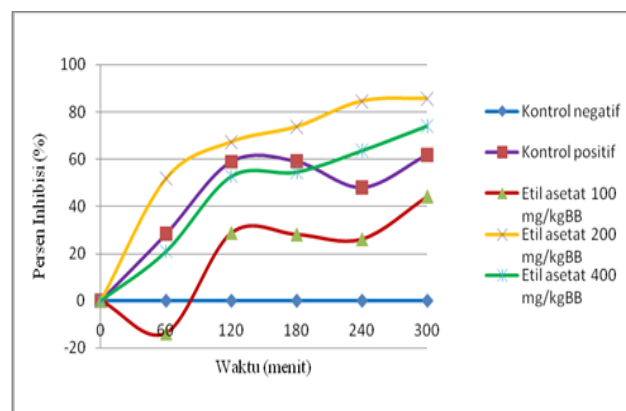
Pemeriksaan kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal yang terbentuk secara alami dalam tumbuhan dan mineral eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuk ekstrak. Pada tahap ini simplisia dipanaskan pada suhu 600°C selama 6 jam (Anonim, 2000).Kadar abu simplisia diperoleh 2,52% dan kadar abu ekstrak diperoleh 0,06%. Farmakope Herbal Indonesia menetapkan bahwa kadar abu simplisia yaitu <5%. Dengan demikian hasil kadar abu simplisia *Uncaria cordata* (Lour.) Merr memenuhi syarat yang ditetapkan dalam Farmakope Herbal Indonesia (Anonim, 2009).

Pada uji fitokimia ekstrak etil asetat menunjukkan adanya senyawa golongan steroid, terpenoid dan saponin. Senyawa golongan steroid memiliki efek sebagai antiinflamasi (Harborne, 1987). Menurut penelitian Narande dkk pada tahun 2013 menjelaskan bahwa ekstrak tumbuhan yang mengandung senyawa steroid juga dapat menurunkan volume udem (**Gambar 2**).



Gambar 2. Alat Pletismometer (Ugo Basile)

Berdasarkan uji ANOVA dua arah yang dilanjutkan dengan uji Tukey terhadap variabel dosis, diketahui bahwa ekstrak etil asetat dosis 100 mg/kgBB tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kontrol negatif Na CMC 1% ($p>0,05$). Hal ini berarti bahwa ekstrak etil asetat pada dosis 100 mg/kgBB tidak memiliki efek antiinflamasi. Sedangkan ekstrak etil asetat dosis 200 dan 400 mg/kgBB memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol negatif Na CMC 1% ($p<0,05$). Hal ini berarti, ekstrak etil asetat pada dosis 200 dan 400 mg/kgBB memiliki efek antiinflamasi (**Gambar 3**).



Gambar 3. Grafik Hubungan persen inhibisi dan Waktu

Dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB memberikan efek antiinflamasi yang lebih besar dibandingkan dosis 100 mg/kgBB. Kemampuan dalam menghambat udem diduga adanya senyawa steroid pada ekstrak etil asetat dalam jumlah yang tinggi. Senyawa steroid bekerja dengan cara menghambat enzim phospholipase yaitu suatu enzim yang bertanggung jawab atas pembebasan asam arakhidonat yang kemudian dimetabolisme oleh enzim siklooksigenase dan lipooksigenase sehingga membebaskan mediator-mediator radang (Katzung, 2002).Selain itu, senyawa steroid

ini mengganggu pembentukan asam arakhidonat yang merupakan mediator peradangan (Rustam dkk, 2007).

Pada dosis 400 mg/kgBB terjadi penurunan efek antiinflamasi. Seharusnya dengan meningkatnya dosis atau konsentrasi, aktivitas antiinflamasinya juga akan meningkat. Akan tetapi, pada ekstrak etil asetat daun *Uncaria cordata* (Lour.)Merr ini memiliki aktivitas yang sebaliknya.Hal ini mungkin keberadaan senyawa terpenoid dan saponin di dalam ekstrak etil asetat lebih dominan sehingga dapat menekan efek antiinflamasi dari senyawa steroid.Dengan demikian, aktivitas antiinflamasi pada ekstrak ini tidak menunjukkan peningkatan aktivitas seiring dengan meningkatnya dosis atau konsentrasi.Hal ini sering dijumpai pada aktivitas ekstrak bahan alam yang merupakan campuran multikomponen.Dimana komponen-komponen tersebut dapat saling sinergis atau antagonis (Kurniawan dkk, 2012).

Pada uji ANOVA dua arah yang dilanjutkan dengan uji Tukey terhadap variabel waktu, pada menit ke-120, 180,240 dan 300 memiliki perbedaan yang signifikan terhadap menit awal.Akan tetapi pada menit ke-60 tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap menit awal.Hal ini menunjukkan bahwa pada menit awal dan menit ke-60, suspensi obat maupun sediaan uji belum memberikan efek antiinflamasi.Efek antiinflamasi muncul pada menit ke-120 yang ditandai dengan peningkatan persentase inhibisi.

CONCLUSION

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pada pemeriksaan kualitas simplisia dan ekstrak etil asetat daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr memenuhi syarat yang ditentukan dalam

Farmakope Herbal Indonesia dan pada ekstrak etil asetat daun *Uncaria cordata* (Lour.) Merr memiliki efek antiinflamasi pada dosis 200 dan 400 mg/kgBB pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap kontrol negatif.

REFERENCES

- Anonim, 2014, *Australian Tropical Rainforest Plants,Uncaria cordata var.cordata*, <http://keys.trin.org.au/key-server/data>, diakses 08 Januari 2015
- Anonim, 2009, *Farmakope Herbal Indonesia*, Edisi I, Depkes Republik Indonesia, Jakarta.
- Anonim, 2005, *Standarisasi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Salah Satu Tahapan Penting Dalam Pengembangan Obat Asli Indonesia*. Badan POM RI, Vol.6, No 4.
- Carvalho, M., Penido, A., Siani, L., Valente, M., Henriques, 2006, "Investigations on The Anti-inflammatory and Antialergic Activities of The Leaves of *Uncaria Guianensis*". *Journal of Inflammopharmacology*, Vol. 141, Hal. 48-56.
- Katzung, G., 2002, *Farmakologi Dasar dan Klinik, Jilid 2*, Diterjemahkan oleh Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Salemba Medika, Jakarta.
- Ndagijimana, A., Xiaoming, W., Yongzhi, H., Guixiang, P., Agyemang, K., Ying, L., 2013, "A Review of the Occurrence of Non-Alkaloid Constituents in *Uncaria* Species and Their Structure-Activity Relationships". *American Journal of Biomedical and Life Sciences*. Vol. 1, Hal. 79-98.
- Raymond, C.R dan Paul, S., 2003, *Handbook Of Pharmaceutical Excipient*, Fourth Edition, Pharmaceutical Press, USA.

- Rojas, D., Gonzales, G., Roiz, M., Bourdy, G., Robert, G., Auberger, D., Castello, J., Ortega, D., 2012, "Antiinflammatory Activity of *Mitraphylline* Isolated from *Uncaria Tomentosa* Bark". *Journal of Ethnopharmacology*, Vol 143, Hal. 801-804.
- Rustam, Erlina, Indah, dan Yanwirastu, 2007, "Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Kunyit (*Curcuma domestica*) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar, *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, Vol.02, Hal. 112-115.
- Sen, S., Raja, C., Biplap, D., Ganesh, H.G., Raghavendra, D., 2010, Analgesic and Antiinflammatory herbs: A Potential Source of Modern Medicine, *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*. IJPSR: Vol.1, Hal. 32-44.
- Singh, G.B., Singh, S., Bani, S., Gupta, B.D., Banerjee, S.K., 1992, "Antiinflammatory Activity of Oleanolic Acid in Rats and Mice". *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Vol. 04, Hal. 456-458.
- Sun, G., Zhang, X., Xu, X., Yang, J., Zhong, M., dan Yuan, J., 2012, "A New Triterpen From *Uncaria macrophylla* and its Antitumor Activity", *Journal Molecules*, Vol 17 Hal. 1883-1889.