

AKTIVITAS ANTI INFLAMASI EKSTRAK BIJI *Litsea garciae* Vidal PADA ODEMA TELAPAK KAKI DAN GAMBARAN HISTOLOGIS KAKI MENCIT

[Anti Inflammatory Activity of *Litsea garciae* Vidal Seed Extracts on Carrageenan Induced Paw Oedema in Mice and Histological Structure of Mice Leg]

Mustika Sari^{1*}, Henny Sulistiany¹

¹*Program Studi Pendidikan Biologi, IKIP PGRI Pontianak Jl. Ampera No. 88 Kota Pontianak,

*Corresponding author

email : mvztikasari@gmail.com

ABSTRACT

Litsea garciae or malek is a native species from Borneo and belongs to the Lauraceae family. Scientifically, the use of these plants is not widely known. The purpose of this study was to determine the anti-inflammatory activity of *Litsea garciae* seeds against edema in mice feet and to determine the histology of the carrageenan-induced integument thickness of mice. The study used a completely randomized design with 5 treatment groups. The treatment group consisted of a negative treatment group (K1), a positive treatment group (K2) with 3 different dosages of Malek seed extract groups. The treatment doses used were Malek seed extract at a dose of 0.625 mg/g BW (P1), 1.25 mg/g BW (2), and 2.50 mg/g BW (P3). Edema percentage and integument thickness were analyzed by the One-Way ANOVA test with ($\alpha = 0.05$). The results showed that the Malek seed extract dose of 0.625 mg/g BW had anti-inflammatory activity against edema of the mice's feet. The percentage of inflammation with doses of 0.625 mg/g BW, 1.25 mg/g BW and 2.5 mg/g BW was 31.10%, 22.58%, and 25.83%. The percentage of reduction in inflammation in the positive control treatment of Na-diclofenac (42.70%) was significantly different from the treatment of Malek seed extract at a dose of 0.0625–2.5 mg/g BW. The percentage of reduction in inflammation in the group treated with 1.25 mg/g BW (P2) Malek seed extract was not significantly different from the 2.5 mg/g BW (P3) treatment of Malek seed extract. The results of histological observations of mice's feet showed that the extract of Malek seeds did not have a significant effect on the thickness of the carrageenan-induced mice leg integument.

Key Words: Inflammation, *Litseagarciae*, Odema, Histological Structure.

ABSTRAK

Litsea garciae atau buah malek/engkala merupakan spesies asli dari pulau Kalimantan dan termasuk kedalam family Lauraceae. Secara ilmiah pemanfaatan tumbuhan tersebut belum banyak diketahui. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas anti inflamasi biji *Litsea garciae* terhadap edema pada kaki mencit dan gambaran histology melalui tebal tegumentum kaki mencit yang diinduksi karagenan. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 5 kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan terdiri dari kelompok perlakuan negative (K1), kelompok perlakuan positif (K2) dengan 3 kelompok dosis ekstrak biji malek yang berbeda. Dosis perlakuan yang digunakan adalah ekstrak biji malek dengan dosis 0,625 mg/g BB (P1), 1,25 mg/g BB (2) dan 2,50 mg/g BB (P3). Persentase udema dan tebal tegument di analisis dengan uji *One-Way ANOVA* dengan ($\alpha = 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak biji malek (*Litsea garciae* Vidal) dosis 0.625 mg/gBB memiliki aktivitas anti inflamasi terhadap udema telapak kaki mencit. Persentase radang dengan dosis 0,625 mg/gr BB, 1,25 mg/gr BB dan 2,5 mg/gr BB secara urut sebesar 31,10%, 22,58%, dan 25,83%. Persentase penurunan radang pada perlakuan kontrol positif Na-diklofenak (42,70%) berbeda nyata dengan perlakuan pemberian ekstrak biji malekdosis 0,07–2.5 mg/g BB. Persentase penurunan radang pada kelompok dengan perlakuan ekstrak biji malek 1.25 mg/g BB (P2) tidak berbeda nyata dengan perlakuan ekstrak biji malek 2.5 mg/g BB (P3). Hasil pengamatan histologis kaki mencit menunjukkan bahwa ekstrak biji malek (*Litsea garciae* Vidal) tidak memberikan pengaruh nyata terhadap tebal integument kaki mencit yang diinduksi karagenan.

Kata kunci: Imflamasi, *Litseagarciae*, Odema, Struktur Histologi

PENDAHULUAN

Kalimantan Barat dengan luas wilayah 14,68 juta ha dan beriklim tropis, memiliki beranekaragam jenis tumbuhan hutan yang berfungsi sebagai sumberdaya alam hayati. Namun demikian masih terdapat tumbuhan yang secara lokal dan endemic kurang dimanfaatkan dan perlu dieksplorasi. Buah malek atau juga dikenal dengan engkala atau kalangkala merupakan buah eksotik yang belum banyak diketahui potensinya hanya dimanfaatkan sebagaimana kanan tambahan sehingga perlu diteliti

potensinya untuk optimalisasi pemanfaatannya secara lebih luas. *Litsea garciae* atau buah malek/engkala (Kalimantan Barat) merupakan spesies asli dari pulau Kalimantan dan termasuk kedalam family Lauraceae (Hassan *et al*, 2013). Lauraceae (medang-medangan) dapat hidup di daerah tropis dan subtropis hingga ketinggian 300 m. *Litsea garciae* tersebar di Malaysia (Sarawak dan Sabah), Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur, dan Kalimantan Barat terutama daerah perbatasan (Slik, 2006).

*Kontributor Utama

*Diterima: 22 Januari 2021 - Diperbaiki: 26 Februari 2021 - Disetujui: 8 Juni 2021

Masyarakat lokal telah memanfaatkan daging buah malek sebagai bahan makanan dan obat dengan menggunakan bijinya untuk mengobati bisul dan bengkak. Buah dari genus *Litsea* telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional dengan aktivitas anti piretik, analgesik, inflamasi, gigitan serangga, nyeri, asma, dan penyakit lainnya (Kong *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2016). Pemanfaatan tumbuhan malek sebagai tanaman obat telah dipraktikkan masyarakat sejak lama yang kemudian berkembang dan menghasilkan sebuah kearifan lokal. Kearifan local tersebut muncul dalam bentuk budaya pemanfaatan nilai dan khasiat dari tumbuhan obat. Namun demikian, bukti secara ilmiah dari pemanfaatan tumbuhan tersebut masih sangat terbatas.

Kandungan senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan *Litsea garciae* adalah alkaloid, flavonoid, tannin, terpenoid, karotenoid dan antosianin (Kuspradini *et al.*, 2019). (Hassan *et al.*, 2013) menyatakan bahwa pada ekstrak methanol 80% biji *L. garciae* mengandung fenol, flavonoid, dan tinggi kandungan antosianin dan buah engkala memiliki potensi sebagai antioksidan. Hasil penelitian Sari dan Ariyani (2010), Andrie dan Idiawati (2014) menunjukkan bahwa ekstrak biji *L. garciae* dengan pelarut etanol ditemukan adanya senyawa alkanoid dan tannin, dan ekstrak daun menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dan kandungan fenol sebesar 237,35 µg TEA/mg.

Susi (2018) menyatakan bahwa komponen asam amino yang dominan pada buah malek adalah asam glutamate (109,7µg/g), dan komponen asam lemak yang paling dominan adalah asam dokosadienoat (221,4µg/mg) sedangkan biji mengandung asam arachidonat (190,7µg/mg). Uji Kualitatif senyawa fitokimia menunjukkan bahwa pada buah malek mengandung alkaloid sedangkan pada biji mengandung alkaloid, flavonoid dan kuinonyang mempunyai aktivitas anti fertilitas, sedangkan kulit kayu, cabang dan daun mempunyai aktivitas sebagai anti bakteri (Akmal *et al.*, 2016; Kuspradini *et al.*, 2019).

Inflamasi merupakan suatu respon protektif normal terhadap luka jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia, atau zat-zat mikrobiologi yang merusak (Santoso *et al.*, 2018). Pelepasan berbagai mediator sel mast setempat seperti histamin, prostaglandin, dan bradikinin terjadi pada gejala lain inflamasi dini. Proses inflamasi akan berjalan terus menerus hingga antigen dapat disingkirkan. Proses ini akan terjadi hingga antigen tereliminasi dari tubuh (Zhang dan Xiong, 2017). Penurunan derajat udem merupakan indicator yang digunakan untuk mengetahui aktivitas bahan obat anti imflasi (Sukmawati *et al.*, 2017).

Kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavanoid, saponin, dan triterpenoid/steoid dapat

berperan sebagai *antiinflamasi*. Senyawa flavonoid diketahui berperan penting dalam menghambat biosintesis prostaglandin (PGE) dan *lipooksigenase* (LOX) (Nijveldt *et al.*, 2001). Berdasarkan hasil beberapa penelitian sebelumnya tentang kandungan dan manfaat dari *Litseagarciae*, maka penelitian ini dilakukan sebagai penelitian awal untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi biji *Litseagarciae* pada mencit dengan induksi karagenan.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji *Litsea graciae* diperoleh dari hutan di Kabupaten Sambas, Kalimantan Barat. Bahan kimia yang digunakan antara lain: aquades, karagenan, larutan NaCl 0,9%, Natrium diklofenak, CMC, metanol absolut, ketamin, Netral Buffer Formalin 10% (NBF), *dekalsification agent*, alkohol 70%, 80%, 90% dan 96%, toluol, paraplast, gliserin, albumin, xilol, hematoksilin, eosin Y, canada balsam. Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih (*Mus musculus*) galur Swiss, jantan umur 8 minggu sebanyak 25 ekor dan berat badan berkisar 22–28 g.

Alat yang digunakan yaitu timbangan elektrik, oven, *rotary evaporator*, plethysmometer, kertassaring, aluminium foil, spuit injeksi 1 ml, sonde oral yang di modifikasi, botol flakon, timbangan, rak pewarna, gelas benda dan gelas penutup, mikroskop, pipet, gelas pengaduk, seperangkat alat bedah, inkubator, *staining jar*, mikrotom, *hot plate*, spaltel, peralatan gelas, dan kamera.

Preparasi dan ekstraksi biji *Litsea garciae*

Biji *L. garciae* dibersihkan dari daging buah dan dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C selama 7 hari kemudian dihaluskan. Ekstraksi dilakukan dengan maserasi menggunakan etanol 96% selama 3x24 jam. Ekstrak yang didapat dari proses maserasi dipekatkan dengan *rotary evaporator*.

Persiapan hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25 ekor mencit jantan (*Mus musculus*) galur Swiss usia 3 bulan dengan berat berkisar 22–28 gram. Hewan uji di aklimatisasi selama 7 hari dengan menggunakan kandang berukuran 40x30x30 cm pada suhu ruang (26–32°C). Selama aklimatisasi hewan uji diberi makan dan minum secara ad-libitum.

Pembuatan Larutan NaCl 0,9% dan Suspensi-Karaganan 1%

Natrium klorida (NaCl) 0,9% digunakan sebagai pelarut karaganan. Sebanyak 0,9 gram NaCl murni ditimbang kemudian dilarutkan dengan aku-

ades sebanyak 100 ml didalam beaker glass lalu diaduk sampai homogen. Sebanyak 0,1 gram karaginan lambda ditimbang kemudian dilarutkan dengan 10 ml larutan NaCl 0,9% di dalam *beaker glass*. Volume suspense karaginan yang digunakan untuk induksi adalah 0,15 ml.

Pembuatan Larutan Carboxi Methyl Cellulosa (CMC) 0,5% dan Suspensi Natrium Diklofenak

Carboxi Methyl Cellulosa (CMC) ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian dikembangkan dengan akuades hangat (70°). Setelah mengembang CMC digerus dengan penambahan akuades hingga 100 ml. Dosis natrium diklofenak untuk manusia adalah 150 mg/60 kg BB. Konversi dosis manusia ke mencit menggunakan rumus konversi dosis berdasarkan luas permukaan tubuh dengan formulasi : Keterangan: km Mencit adalah 3 dan km Manusia adalah 37

Berdasarkan rumus diatas maka didapat dosis untuk mencit adalah 30,8 mg/kg BB atau 0,924 mg/30 g BB. Natrium diklofenak kemudian dilarutkan dengan larutan CMC 0,5% sampai homogen dan dicukupkan hingga volume 0,5 ml. Natrium diklofenak digunakan sebagai obat antiinflamasi standar.

Penetapan Dosis Karaginan dan Ekstrak biji

$$\text{Dosis Mencit} = \text{Dosis Manusia (mg/kg)} \times \frac{\text{km Manusia}}{\text{km Mencit}}$$

Litsea garciae

Perlakuan uji anti inflamasi dilakukan dengan induksi suspense karaginan 1% dalam NaCl 0,9% sebanyak 0,15 ml. Penetapan konsentrasi ekstrak berdasarkan uji pendahuluan yang dilakukan pada konsentrasi 125 mg/kg BB yang mengakibatkan peningkatan jumlah leukosit. Ekstrak yang digunakan untuk uji selanjutnya dibuat variasi dosis dengan konsentrasi 62,5 mg/kg BB, 125 mg/kg BB, dan 250 mg/kg BB.

Prosedur Uji Antiinflamasi

Penelitian ini menggunakan metode Winter (1962) dalam Turner 1965. Induksi karaginan dilakukan dengan cara menyuntikkan 0,15 ml suspense karaginan 1% pada telapak kaki mencit. Udem yang terbentuk pada telapak kaki mencit diukur menggunakan alat jangka sorong.

Uji antiinflamasi diawali dengan memuaskan mencit selama 18 jam namun tetap diberi minum. Mencit ditimbang dan dikelompokkan menjadi lima kelompok dengan jumlah masing-masing kelompok tikus adalah 5 ekor. Sebelum diberi bahan uji, kaki kiri mencit ditandai tepat di mata kaki kemudian diukur ketebalan kaki mencit dengan jangka sorong. Volume kaki sebelum diberi obat dan di

induksi dengan larutan karagenan dicatat sebagai diameter awal (Do). Masing-masing tikus diberi suspense bahan uji secara oral sesuai dengan kelompoknya yaitu :

K1 : Kontrol negatif

K2 : Kontrol positif

P1: Perlakuan 1: Ekstrak biji malek 0.625 mg/g BB

P2: Perlakuan 2: Ekstrak biji malek 1.25 mg/g BB

P3: Perlakuan 3: Ekstrak biji malek 2.5 mg/g BB

Satu jam kemudian kepada masing-masing kelompok perlakuan di induksi secara subplantar dengan 0,1 ml karagenan 1%. Ketebalan kaki dan persentase penurunan radang mencit diukur pada menit ke 0, 60, 120, 180, 240, dan 300. Persentase peradangan dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Udem} = (1 - \text{Ct} / \text{Co}) \times 100\%$$

Keterangan:

Ct : Volume edema pada kelompok dengan perlakuan ekstrak atau kontrol positif

Co : Volume edema pada kelompok kontrol negatif

Analisis Data

Data hasil penelitian di uji normalitasnya dengan uji *Saphiro Wilk*. Data dikategorikan terdistribusi normal jika $p > 0,05$. Analisis dilanjutkan dengan uji homogenitas (uji *Levene*), nilai $p > 0,05$ berarti data yang didapatkan homogen. Data yang diperoleh di analisis secara statistic menggunakan metode ANOVA (*Analysis Of Variance*) dengan tingkat kepercayaan 95%, apabila terdapat perbedaan nyata antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL

Kondisi inflamasi salah satunya ditandai dengan adanya pembengkakan. Pada penelitian ini proses inflamasi dilakukan dengan induksi bahan kimia karaginan pada kaki mencit. Pengukuran proses inflamasi dilakukan dengan mengukur ketebalan kaki mencit dan persentase radang yang terjadi selama 5 jam. Tabel 1 menunjukkan hasil pengukuran rata-rata ketebalan kaki mencit selama 5 jam.

Tabel 1. Rata-rata ketebalan kaki mencit pada pengamatan selama 5 jam (*Average thickness of the mice's feet in observations for five hours*)

Perla- kuan (<i>Treat- ment</i>)	Ketebalan kaki (<i>Feet thickness</i>) (mm)						Rata-rata persentase penghambatan ra- dang (<i>Average per- centage of inflamma- tion inhibition</i>) (%)
	0	60	120	180	240	300	
K1	1,78±0,09	1,92±1,15	1,97±0,37	1,89±0,18	1,80±0,29	1,70±0,06	-
K2	1,60±0,09	1,75±0,02	1,63±0,05	1,60±0,04	1,63±0,01	1,53±0,08	42,70 ^a
P1	1,32±0,01	1,33±0,02	1,42±0,05	1,50±0,04	1,74±0,01	1,51±0,08	31,10 ^b
P2	1,72±0,02	1,70±0,02	1,84±0,07	1,61±0,18	1,72±0,03	1,67±0,01	22,58 ^{ab}
P3	1,51±0,14	1,77±0,07	1,58±0,19	1,53±0,02	1,68±0,01	1,55±0,12	25,83 ^{ab}

Data ditampilkan dalam nilai rata-rata ± standar deviasi. Huruf yang berbeda pada setiap kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada $p < 0,05$

Keterangan :

K1 : Kontrol negatif

K2 : Kontrol positif

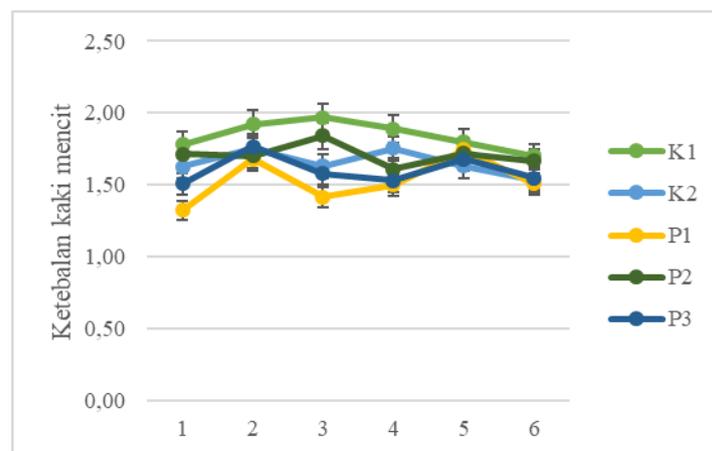
P1: Perlakuan 1: Ekstrak biji malek 0,625 mg/g BB

P2: Perlakuan 2: Ekstrak biji malek 1,25 mg/g BB

P3: Perlakuan 3: Ekstrak biji malek 2,5 mg/g BB

Tabel 1 menunjukkan bahwa pada jam ke 5 terdapat perbedaan rata-rata ketebalan kaki mencit pada semua kelompok perlakuan. Penurunan tebal kaki mencit juga terdapat pada Gambar 1. Berdasarkan hasil pengukuran pada 5 jam setelah induksi karagenin menunjukkan adanya penurunan ketebalan kaki mencit pada kelompok perlakuan K2, P1, P2 dan P3 jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Pada tiap jam pengamatan, kelompok kontrol negative memiliki nilai ketebalan kaki yang paling tinggi jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lainnya. Pada jam ke-1 untuk semua kelompok perlakuan terdapat kenaikan ketebalan kaki mencit

akibat adanya induksi karagenin. Pada jam kedua ketebalan kaki mencit paling kecil terdapat pada kelompok perlakuan pertama yaitu perlakuan dengan dosis 0,625 mg/gr BB sehingga dapat dikatakan bahwa pada jam tersebut ekstrak biji sudah memberikan reaksi untuk menghambat proses inflamasi pada kaki mencit walaupun pada jam ketiga terdapat kenaikan ketebalan kaki mencit. Pada kelompok perlakuan kedua (P2) dan ketiga (P3) kenaikan ketebalan kaki mencit terjadi mulai dari jam 1 hingga ke jam 3 dan mengalami penurunan pada jam 4 hingga jam ke 5.



Gambar 1. Grafik penurunan ketebalan kaki mencit selama five jam pengamatan (*Decrease thickness of the mice's feet for five hours of observation*)

Terdapat perbedaan ketebalan kaki yang signifikan antara kelompok perlakuan 1 (P1) dan 2 (P2) dengan kelompok perlakuan kontrol positif (K2). Pada kelompok kontrol positif dengan perlakuan natrium diklofenak (K2) menunjukkan persentase penghambatan edema (42,70%) lebih besar dari persentase penghambatan pada kelompok perlakuan 3 (P3) (25.83%) dengan pemberian ekstrak biji 2,5 mg/gr BB. Hasil uji statistic menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan Persentase rata-rata radang (udema) antara kelompok yang diberi ekstrak biji malek 0,625 mg (P1) dengan perlakuan kontrol positif berbeda secara nyata, tetapi tidak terdapat perbedaan yang nyata antara kelompok perlakuan ekstrak biji malek 2,5 mg/g BB (P3) dengan kelompok perlakuan ekstrak biji malek 0,125 mg/g BB (P2). Berdasarkan hasil yang diperoleh maka pemberian ekstrak biji malek dengan dosis 0,625 mg/g BB dan 1,25 mg/g BB berpotensi untuk menurunkan ketebalan udema pada kaki mencit. Perlakuan ekstrak biji malek 0,625 mg/b BB (P1) dapat menurunkan udema lebih besar secara nyata dibandingkan dengan

perlakuan P2 dan P3, sehingga pemberian ekstrak biji malek 0,625 mg/g BB merupakan dosis yang optimum untuk menghambat reaksi udema.

Indikator lain yang digunakan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji malek adalah dengan mengamati perubahan yang terjadi pada sel secara mikroskopik. Hal ini dapat diamati pada preparat histologis kaki mencit yang telah mendapatkan perlakuan setelah 5 jam. Pengamatan dilakukan secara kuantitatif dengan cara menghitung tebal integument kaki mencit dan secara kualitatif dengan mengamati preparat histology khususnya pada bagian epidermis kaki mencit. Pada akhir pengamatan, mencit dikorbankan kemudian kakinya diambil untuk dibuat preparat histologis dan diukur tebal integument (epidermis dan dermis). Table 2 menunjukkan hasil pengukuran tebal integument kaki mencit.

Tabel 2. Tebal integument kaki mencit setelah perlakuan 5 jam (*Integument thickness of mice's feet after 5 hours treatment*)

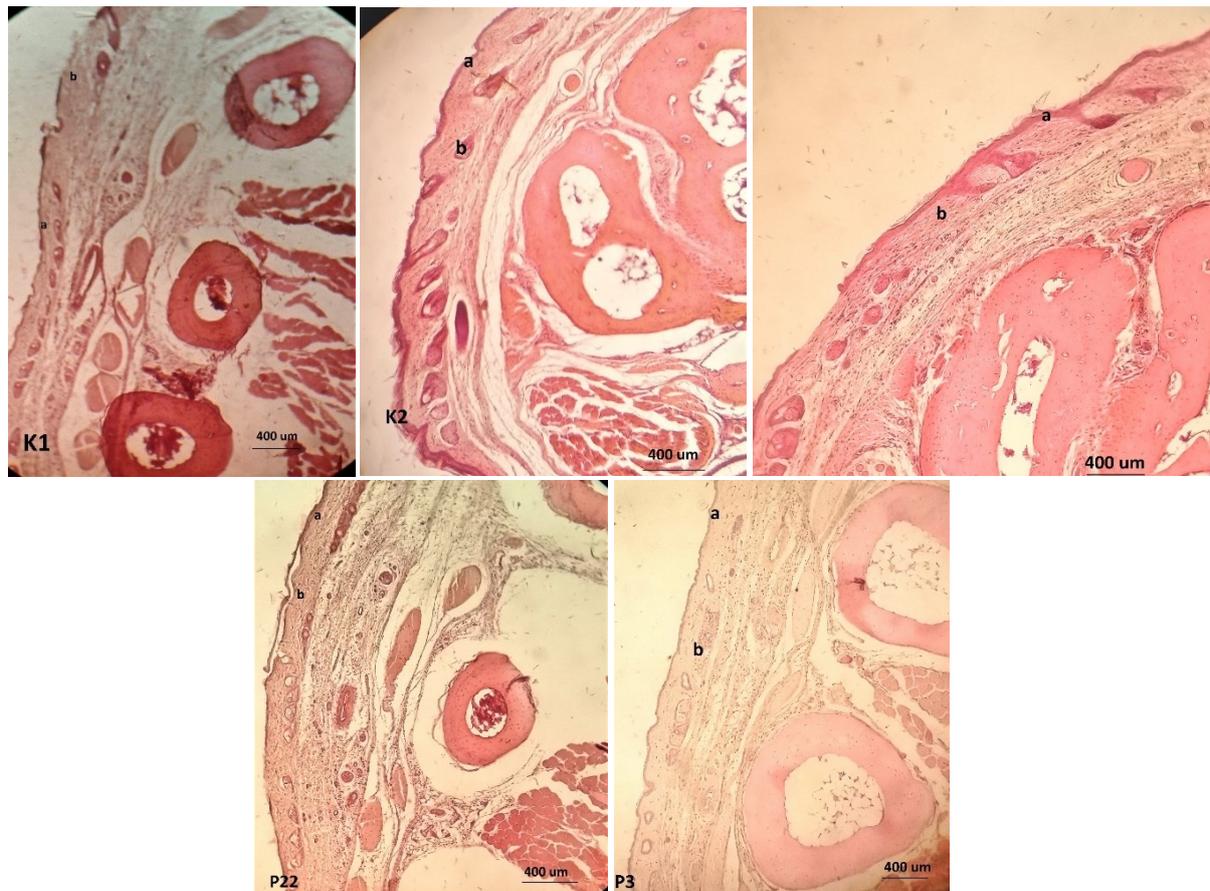
Kelompok perlakuan (<i>Treatment group</i>)	Tebal integument (<i>Integument thickness</i>) (µm)
K1	240,31±7,29 ^a
K2	242,75±6,53 ^a
P1	221,54±6,03 ^a
P2	234,45±7,09 ^a
P3	245,43±7,34 ^a

Keterangan: Data ditampilkan dalam nilai rata-rata ± standar deviasi. Huruf yang berbeda pada setiap kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada p<0,05. (*Data are shown in mean ± standard deviation. Different letters in each of the same column indicate a significant difference at p<0.05.*)

Berdasarkan hasil pengukuran terdapat perbedaan rata-rata tebal integument pada semua kelompok perlakuan tidak berbeda secara nyata pada semua kelompok perlakuan. Oleh sebab itu inflamasi yang terjadi pada kaki mencit pada semua perlakuan tidak menyebabkan perubahan struktur histologi kaki mencit.

Gambar 2. menunjukkan struktur histologis kaki mencit pada lapisan epidermis dan dermis. Secara kuantitatif terdapat perbedaan ketebalan integument pada kelompok kontrol negatif (K1) dengan kelompok perlakuan (P1) dan (P2) namun tidak signifikan. Gambar 2A, 2B dan 2C secara berturut-turut menunjukkan tidak terdapat perbedaan pada gambaran struktur histologis pada kaki. Berdasar-

kan struktur histologist terjadi pembengkakan pada preparathistologi kaki mencit. Berdasarkan gambar secara kualitatif terdapat peradangan terjadi pada semua perlakuan baik kontrol maupun perlakuan. Peradangan yang terjadi disebabkan adanya akumulasi sel radang pada daerah yang diinduksi karagenan. Secara kualitatif integumentum pada kelompok kontrol negatif juga lebih tebal dari pada integumentum pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Hal tersebut disebabkan karena pada kelompok kontrol negatif masih terjadi pembengkakan.



Gambar 2. Gambaran histologi kaki mencit yang di induksi karagenan dengan pewarnaan HE (*Histological of the mice's feet induced by carrageenan stained with HE*) (400X)

Keterangan : a (Epidermis), b (dermis)

K1 : Kontrol negatif

K2 : Kontrol positif

P1: Perlakuan 1: Ekstrak biji malek 0,625 mg/g BB

P2: Perlakuan 2: Ekstrak biji malek 1,25 mg/g BB

PEMBAHASAN

Inflamasi merupakan suatu proses protektif normal terhadap trauma fisik atau zat-zat mikrobiologik yang bisa menyebabkan terjadinya luka jaringan (Cakraborty *et al*, 2004). Antiinflamasi adalah sebutan untuk agen/obat yang bekerja melawan atau menekan proses peradangan. Penyebab inflamasi antara lain mikroorganisme, trauma mekanis, zat-zat kimia dan pengaruh fisika. Respon anti-inflamasi dapat berupa *rubor* (kemerahan), *kalor* (panas), *dolor* (nyeri) dan *tumor* (pembengkakan) (Umboh *et al*, 2017). Inflamasi terjadi pada tiga fase yaitu fase akut, sub akut dan fase kronik. Inflamasi pada penelitian ini dilakukan dengan induksi karagenan pada telapak kaki mencit.

Karagenan merupakan suatu mukopolisakarida yang diperoleh dari rumput laut merah Irlandia (*Chondrus crispus*). Karagenan merupakan suatu zat asing (antigen) yang bila masuk ke dalam tubuh akan merangsang pelepasan mediator radang seperti histamin sehingga menimbulkan radang akibat antibodi tubuh bereaksi terhadap antigen (Necas, 2013). Karagenan berperan dalam pembentukan udem dalam model inflamasi akut (Singh, 2008).

Adanya pembengkakan pada semua kelompok perlakuan menunjukkan adanya radang akibat induksi karagenan 1%. Efek antiinflamasi pada mencit di tandai dengan adanya penurunan ketebalan kaki mencit akibat induksi karagenan secara subplanatar.

Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan ketebalan kaki mencit pada pengamatan selama 5 jam pada kelompok perlakuan K1, K2, P1, P2 dan P3. Ketebalan kaki pada kelompok kontrol negatif paling tinggi pada tiap jam pengamatan. Hal ini dapat disebabkan pada kelompok kontrol negative tidak diberikan obat atau senyawa antiinflamasi. Aktivitas anti inflamasi merupakan kemampuan obat atau senyawa kimia untuk mengurangi atau menekan derajat edema pada hewan uji. Pengamatan pada jam ke-1 menunjukkan adanya peningkatan ketebalan kaki mencit akibat adanya induksi karagenan untuk semua kelompok. Hal inimenunjukkan sudah terjadinya radang pada kaki mencit setelah 1 jam induksi karagenan. Karagenan menghasilkan peradangan akut yang ditandai dengan ciri vasodilatasi lokal yang akan meningkatkan aliran darah, peningkatan permeabilitas kapiler yang akan menyebabkan kebocoran cairan ke dalam ruang interstisial dan emigrasi leukosit terutama neutrophil sehingga menyebabkan edema (Umboh *et al.* 2017). Karagenan merupakan senyawa iritan sebagai inductor radang dengan melepaskan mediator inflamasi sehingga terjadi cedera sel yang merupakan proses awal inflamasi. Radang akibat pelepasan mediator inflamasi tersebut, bertahan selama 6 jam dan dalam waktu 24 jam berangsur-angsur akan berkurang. Radang akan mencapai maksimal pada 3–5 jam setelah injeksi karagenan (Ravi *et al.*, 2009).

Waktu pemberian karagenan dilakukan satu jam setelah pemberian perlakuan baik berupa ekstrak biji malek atau Na-diklofenak. Hal ini dilakukan supaya dalam selang waktu 60 menit perlakuan yang diberikan telah dapat menimbulkan efek secara maksimal untuk menurunkan edema. Tabel 1. menunjukkan bahwa ketebalan kaki mencit mulai menurun pada jam kedua. Kelompok dengan ketebalan kaki mencit paling rendah didapatkan pada kelompok yang diberi ekstrak biji malek 0.625 mg/g BB (P2), namun pada jam ketiga hingga jam ke 5 terjadi kenaikan pada ketebalan kaki mencit meskipun tidak sebesar pada kelompok perlakuan P2 dan P3. Tubuh sudah memberikan respon fisiologi terhadap radang pada jam ke 3 hingga ke 5. Respon dari induksi karagenan berlangsung relatif cepat dan merupakan induksi inflamasi akut meskipun radang dapat bertahan selama 360 menit dan berangsur-angsur berkurang selama satu hari (Sukmawati, 2015).

Proses penurunan radang dapat dipercepat dengan pemberian obat anti inflamasi. Pemberian Na-diklofenak dan ekstrak etanol biji buah malek dapat menekan proses radang yang terjadi pada kaki mencit. Efektivitas obat atau ekstrak dalam menurunkan radang diamati dari persentase penurunan radang. Tabel 1. menunjukkan bahwa

pemberian Na-Diklofenak menurunkan persentase radang paling tinggi (42,70%). Natrium diklofenak yang digunakan dalam penelitian ini sebagai kontrol positif merupakan golongan obat antiinflamasi Non Steroid (AINS) turunan asam asetat yang memiliki fungsionalitas asam sehingga dapat berikatan dengan enzim COX untuk menghambat biosintesis prostaglandin. Mekanisme kerja obat AINS meliputi reduksi sintesis prostaglandin dengan menghambat Cyclooxygenase Enzym (COX). Natrium diklofenak menjadi inhibitor kompetitif terhadap asam arakidonat untuk dapat berikatan dengan enzim COX, obat tersebut memiliki lipofilitas tinggi serta menyerupai substrat alami dari COX (Azzab *et al.* 2016).

Penurunan persentase radang pada kelompok P1 lebih besar secara nyata jika dibandingkan dengan kelompok P2 dan P3 tetapi lebih rendah jika dibandingkan dengan K2. Dosis yang diberikan tidak berbanding lurus dengan persentase penurunan radang. Menurut Katzung (2002) intensitas efek obat berbanding lurus dengan reseptor yang di duduki atau yang diikatnya. Intensitas efek mencapai maksimal bila seluruh reseptor diduduki oleh obat. Oleh karena itu peningkatan dosis tidak memberikan peningkatan terhadap efek antiinflamasi (Sukmawati *et al.* 2015).

Penurunan ketebalan kaki mencit pada P2 dan P3 diduga akibat adanya efek antiinflamasi yang terkandung pada biji malek. Senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan seperti flavonoid, alkaloid, tannin, dan fenoldi ketahuai dapat digunakan sebagai anti inflamasi (Yang *et al.* 2016). Kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada biji buah malek adalah flavonoid, tannin, fenol, antosianin, alkaloid, terpenoid dan coumarin (Hassan *et la.*, 2013; Kuspradini *et al.* 2019). Flavonoid bertindak sebagai penghambat enzim lipoksidase yang berfungsi dalam pembentukan biosintesis leukotriene. Leukotriene merupakan mediator inflamasi yang diproduksi oleh oksidasi asam arakidonat. Penghambatan ini menyebabkan prostaglandin berkurang sehingga proses radang dapat ditekan. Wang *et al.* (2016) menyebutkan bahwa flavonoid juga menghambat sekresi enzim lisosom yang merupakan mediator inflamasi. Penghambatan mediator inflamasi ini dapat menghambat proliferasi dari proses radang. Senyawa bioktif lain yang ditemukan pada biji buah malek adalah tannin. Tannin memiliki aktivitas antioksidan yang berperan sebagai anti inflamasi dengan beberapa mekanisme yaitu menghambat produksi oksidan (O_2) oleh neutrofil, monosit dan makrofag. Penghambatan produksi oksidan akan mengurangi pembentukan H_2O_2 yang mengakibatkan produksi asam hipoklorid (HOCl) dan OH ikut terhambat (Azab *et al.* 2016).

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengetahui mediator inflamasi yang disebabkan oleh pemberian ekstrak biji malek sehingga dapat diketahui mekanisme anti inflamasinya. Proses inflamasi melibatkan terjadinya perubahan pada jaringan yang radang. Secara histologis peradangan ditandai dengan terjadinya perubahan pada struktur jaringan. Emigrasi leukosit terutama neutrophil menyebabkan cairan menumpuk di ruang intersisial sehingga menyebabkan pembengkakan. Selain itu pada fase kronik ditandai dengan adanya limfosit dan makrofag, terbentuknya jaringan fibrosis dan proliferasi pembuluh darah.

Pembuatan preparat histologis kaki mencit bertujuan untuk mengetahui gambaran histologis dan pengukuran tebal integumentum kaki mencit setelah injeksi karaginan. Hasil pengamatan preparat histologis kaki mencit menunjukkan bahwa tebal integumentum kaki mencit yang diberi ekstrak biji malek dosis 0,625 mg/g BB sampai 2,5 mg/g BB tidak berbeda nyata. Gambar 2 menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak biji malek tidak menurunkan ketebalan integumentum kaki mencit secara nyata setelah induksi karaginan. Hal tersebut diduga terjadi karena di dalam integumentum mencit masih terdapat sel-sel leukosit, elemen-elemen darah, cairan dan mediator kimia serta sel-sel yang berperan dalam proses penyembuhan dan penutupan jaringan inflamasi seperti sel fagositik (neutrofil dan monosit), sel stroma lokal dan platelet dan faktorkoagulasi. Pengamatan histologis pada preparat yang di induksi karaginan dilakukan dengan pengamatan mikroskopis di daerah epidermis, dermis dan hipodermis dan mengidentifikasi keberadaan sel-sel radang, fibroblast, epitel squamous kompleks, folikel rambut, jaringan ikat dengan pembuluh darah arteri dan vena, jaringan lemak dan otot skelet. Namun demikian pada penelitian ini pengamatan histologi preparat hanya dilaksanakan pada tahap pengukuran tebal integument yang diperoleh dari pengukuran epidermis hingga dermis. Penelitian selanjutnya akan dilakukan kajian lebih mendalam dengan gambaran deskriptif preparat histologis kaki mencit.

KESIMPULAN

Ekstrak biji malek (*Litsea garciae*) dengan dosis 0,625 mg/g BB memiliki potensi sebagai anti inflamasi terhadap udema telapak kaki mencit. Ekstrak biji malek (*L. garciae*) tidak memberikan pengaruh terhadap tebal integument kaki mencit yang diinduksi karaginan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Kementerian Riset dan Teknologi Pendidikan Tinggi (Kemristek Dikti) melalui Badan Riset dan

Inovasi Indonesia (BRIN) melalui skim Penelitian Dosen Pemula (PDP) untuk pendanaan yang diberikan hingga penelitian ini dapat terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, N., Choudhary, A.S., Sharma, M.C. and Dobhal., 2011. Chemical constituents of plants from the Genus *Litsea*. *Chemistry and Biodiversity*, 8(2): 245–253.
- Andrie, N & Idiawati, R. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksitas Ekstrak Daun Malek (*Litsea Garciae* Vidal). *Jurnal Khatulistiwa*, 3(4):21–25
- Akmal, A., Kuswanto., Fahrunnisa, S., Rahmi., Bayanil., Anni, N., 2016. Efek Spermisida Ekstrak Metanol Biji Buah Kalangkala (*Litsea angulata*) Terhadap Spermatozoa Mencit (*Mus Musculus*). *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 2(2). 78–84.
- Artis, D. and Spits, H., 2015. The Biology Of Innate Lymphoid Cells. *Nature*, 517(7): 293–301.
- Azzab, A., Nassar, A., Azab, A.N. 2016 Anti Inflammatory Activity of Natural Products. *Molecule*, 21(10): 2–19.
- Azhar, M, Salleh., W. 2020. Chemical Composition And Biological Activities Of Essential Oils Of The Genus *Litsea* (Lauraceae) - A Review. *Agric Conspec*, 85(2): 97–103
- Baratawidjaja, K.G. 2002. *Imunologi Dasar*. Edisi Kelima. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Chakraborty, A., Devy, R.K.B., Devi, Rita, S., Sharatchandra, Kh. and Singh, Th.I., 2004. Preliminary studies on anti-inflammatory and analgesic activities of spilanthus acmella in experimental animal models. *Indian Journal Pharmacology*, 36(3): 148–150.
- Corwin, E.J., 2008. *Handbook Of Pathophysiology*, Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams Wilkins: Philadelphia.
- Devib, P. and Meera, R., 2010. Study of antioxidant, Anti inflammatory and wound healing activity of extracts of *Litsea glutinosa*. *Journal of pharmaceutical sciences and Research*, 7(2): 155–163.
- Elmitra, E., Apriyanti, O. and Sepriani, T.L. 2019. Uji Efektivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Cabe Rawit (*Solanum frutescens* L.) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*) Dengan Metode Induksi Caraagenan. *Journal Academi Pharmacy Prayoga*, 4(2): 1–13.
- Hassan, S.H., Jeffrey, Abu, M.F., 2013. Antioxidant and phytochemical study on pengolahan (*Litsea garciae*) an edible underutilized fruit endemic to Borneo. *Food Science and Biotechnology*, 22(5): 1197–1203.
- Indriyani, 2015. Buah *Litsea garciae*, buah eksotik asal Kalimantan. Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. *Hortikulturano*, 2(1): 34–40
- Kong, D.G., Zhaou, Y., Li, M. 2015. The Genus *Litsea* In Traditional Chinese Medicine: Anethnomedical, Phytochemical and pharmacological review. *Journal of Ethnopharmacology*, 2(12): 113–120
- Kuspradini, Wulandari, Putri, A.S., Tiya., 2019. Phytochemical, Antioxidant and Antimicrobial Properties of *Litsea angulata* extracts. *F1000research*, 7:1839–1849
- Katzung, B.G. 2002. *Farmakologi Dasar Dan Klinik Edisi 8*. Salemba Medika: Jakarta.
- Lim, T.K. 2012. *Litsea garciae*, In *Fruits, Edible Medicinal And Non Medicinal Plants*. Springer Sciece, 3(1): 898–907.
- Morris, Christopher J. 2003. Carrageenan Induced Paw Edema in the Rat and Mouse. *Inflammation Protocols*, 225: 890–902
- Necas, J. and Bartosikova, L., 2013. Carrageenan: A Review. *Veterinari Medicina*, 58 (4): 187–205.
- Nijveldt, R.J., van Nood, E., van Hoorn Boelens, P.G., van Norren, K. van Leeuwen, P.A., 2001. Flavonoid: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical and Nutrition*,

- 74, pp. 418–425.
- Nuroini, F. and Nastiti, 2017. Uji efek antiinflamasi sarang burung walet (*Collocalia fuciphaga* Thunberg) terhadap gambaran histologis telapak kaki mencit (*Mus musculus Linneaus*). *Jurnal Labora Medika*, 1(1), pp. 21–26
- Octasari, P.M. dan Djunarko, I., 2012. Efek anti-inflamasi Benzoil Eugenol secara topikal terhadap edema kaki yang diinduksi Formalin 0,5% pada mencit jantan galur Swiss. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 9(1), pp. 26–35.
- Ravi, V., Saleem, T.S.M., Patel, S.S., Raamamurthy, J., Gauthaman, K., 2009. Anti-Inflammatory effect of methanolic extract of *Solanum nigrum* Linn. *National Library Medicine*, 2(2), pp. 33–36.
- Santoso, P., Sari., WB., Kusuma, Y. 2018. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antiinflamasi ekstrak N-Butanol buah dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) pada tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) dengan metode Paw Edema yang diinduksi karagenan. *Medicamento*, 4(2), pp. 2356–4818
- Saputri, R. dan Susiani, E., 2018. Uji aktivitas antioksidan dan ekstrak etanol buah dan biji buah kalangkala (*Listea angulata*) asal Kalimantan Selatan. *Borneo Journal of Pharmacy*, 1(2), pp. 81 – 84
- Sari, M & Ariyani., D. 2016. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Biji Kalangkala (*Litsea angulata*). *Sains Dan Terapan Kimia*, 4(2):131–136
- Sentat, T & Handayani, F. 2018. Uji Efek Antinflamasi Ekstrak Etanol Biji Lamtoro (*Leucaena leucocephala* L.) Terhadap Udem Telapak Kaki Mencit yang Diinduksi Karagenan. *Akademi Farmasi Samarinda*, 2(1), pp. 34–42
- Singh, A., Maholtra, S., and Subban, R. 2008. Antiinflammatory And Analgesic Agents From Indian Medicinal Plants. *International Journal of Integrative Biology*, 34(1), pp765–742
- Sukmawati, Yuliet, Ririen. 2015. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* L.) Terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Yang Diinduksi Karagenan. *Galenika Journal Of Pharmacy Vol. 1 (2)*: 126–132
- Slik J.W.F. 2006. Trees of Sungai Wain. [Http://www.Nationaalherbarium.Nl/Sungaiwain/Main.Htm](http://www.Nationaalherbarium.Nl/Sungaiwain/Main.Htm).
- Suwiti, N. 2010. Deteksi Histologik Kesembuhan Luka Pada Kulit Pasca Pemberian Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn). *Buletin Veteriner Udayana*.2(1):1–9
- Tanu, I., Syarif, A., Estuningtyas, A., Setiawati, A., Muchtar, H.A. Dan Arif, A. 2002. *Farmakologi Dan Terapi*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Trade Winds Fruit. *Plant Informational Database*, Diunduh 10 Agustus 2019, <[Http://Www.Tradewindsfruit.Com/Content/Litsea.Htm](http://Www.Tradewindsfruit.Com/Content/Litsea.Htm).
- Turner, R.A. 1965. *Screening Method in Pharmacolog*. Academic Press. New York, USA.
- Umboh, A.V, Mege, R.A. dan Rompas, C.F.E., 2017. Potensi anti-inflamasi ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap edema eelapak kaki tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinjeksi formalin. *Jurnal Sains, Matematika dan Edukasi*, 5(2), pp. 211–217.
- Voon B.H. and Kueh H.S., 1999, Nutritional Value Of Indigenous Fruits And Vegetables In Sarawak, *Asia Pacific J C Lin Nutr*;8(1):24–31.
- Wang, Y.S., Liao, Z., Zhu, H., Feng, X., Huang, R., Zhu, N., Yang, J.-H., 2012. Megastigmane O-glucopyranosides from *Litsea glutinosa*. *Chemistry of Natural Compounds* 48: 346–349.
- Wilmana, F. P., 2007, *Farmakologi Dan Terapi Edisi Ke-5*. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Yan, X.H., Zhang, F.X., Wei, X.Y., Xie, H.H., Liu, M.F. 2001. Chemical constituents in Essential Oil from the leaves of *Litsea rotundifolia* var *Oblongifolia*. *J. Trop. Subtropical Bot*: 81–82.
- Yang, R., Yuan, B.C., Sheng Ma, Y., Zhou, S., Liu, Y. 2016. The Anti Inflammatory activity of licorice, a widely used Chinese herb. *Pharmaceutical Biology*, 2: 1–14.
- Xu, Z., Zhou, J., Cai, J., Zhu, Z., Sun, X., Dan Jiang, C. 2012. Anti-Inflammatory Effects Of Hydrogen Saline In Lps Activated Macrophages And Carrageenan Induced Paw Oedema. *Journal Of Inflammation*. 9 (2): 1–8.
- Yan, X.H., Wei, X.Y., Xie, H.H., Liu, M.F., Zhang, F.X. 2000. A review of the studies on Chemical Constituents from *Litsea* Lam. *J. Trop. Subtropical Bot*. 8, 171–176.
- Yun, S., Zheng, B., Taoli, B., Hong, B., Jing, H. 2016. Ethnobotany, Phytochemistry And Pharmacology of the genus *Litsea*. *Journal Of ethnopharmacology*, 66–107.
- Zhang J M, Xiong J. 2007. Cytokines, inflammation and pain. *Int Anesthesiol Clin*, 45(2):27–37.