

**AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN ASHITABA
(*Angelica keiskei*) SECARA *IN VIVO* DENGAN PENGINDUKSI KARAGENAN**

*Antiinflammation Activity Of 70% Ethanol Extract Of Ashitaba Leaf (Angelica Keiskei)
In Vivo With Caragenan Induction*

Haka As'ada, Yardi Saibi, Hendri Aldrat

Program Studi Farmasi-Fakultas Ilmu Kesehatan UIN- Syarif Hidayatullah Jakarta
Jalan Kertamukti No.5, Pisangan, Ciputat, Tangerang Selatan 15412

Email: yardi@uinjkt.ac.id

081381780975

Abstract

Ashitaba leaves (Angelica keiskei) or also known as tomorrow's leaf is plant that known to have various health benefit, one of them is as an anti-inflammatory activity. The anti-inflammatory activity of ashitaba leaves has been known through in vitro assays. This study aims to determine the anti-inflammatory activity of 70% ethanol extract of ashitaba leaves through in vivo assay. Anti-inflammatory activity was performed on white male rat of Sprague dawley strain with induction method of edema on rat's foot using 1% carrageenan 0.2 ml. Rats were divided into 5 groups. The negative control group was given a 0.5% Na-CMC suspension, a positive control group was given sodium diclofenac suspension of 5.14 mg / kgBW, and the test group was given 70% ethanol extract of ashitaba leaves at a dose of 1000; 2000; and 4000 mg / kgBW suspended in 0.5% Na-CMC. The results showed that in that dose range the 70% ethanol extract of ashitaba leaves had anti-inflammatory activity that did not depend on the dose. Percentage of edema of 70% ethanol extract of ashitaba leaves dose 1000; 2000; 4000 mg / kgBB was significantly different with negative control ($p \leq 0,05$) and had percentage of edema inhibition respectively 83,95%, 79,01%, and 80,25%. The results of this study showed that 70% ethanol extract of ashitaba leaves have anti-inflammatory activity.

Keywords: *Ashitaba, Angelica keiskei, tomorrow's leaf, anti-inflammatory, carrageenan.*

Abstrak

Daun ashitaba (*Angelica keiskei*) atau juga dikenal dengan *tomorrow's leaf* merupakan salah satu tanaman yang dikenal memiliki berbagai khasiat, salah satunya ialah sebagai antiinflamasi. Aktivitas antiinflamasi dari daun ashitaba telah diketahui melalui uji *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi dari ekstrak etanol 70% daun ashitaba secara *in vivo*. Uji aktivitas antiinflamasi dilakukan pada tikus putih jantan galur *Sprague dawley* dengan metode induksi edema pada telapak kaki tikus menggunakan karagenan 1% sebanyak 0,2 ml. Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol negatif diberikan suspensi Na-CMC 0,5%, kelompok kontrol positif diberikan suspensi natrium diklofenak 5,14 mg/kgBB, dan kelompok uji diberikan ekstrak etanol 70% daun ashitaba dengan dosis 1000; 2000; dan 4000 mg/kgBB yang disuspensikan dalam Na-CMC 0,5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada rentang dosis tersebut ekstrak etanol 70% daun ashitaba memiliki aktivitas antiinflamasi yang tidak bergantung pada dosis. Presentase edema ekstrak etanol 70% daun ashitaba dosis 1000; 2000; 4000 mg/kgBB berbeda signifikan dengan kontrol negatif ($p \leq 0,05$) dan memiliki nilai persentase inhibisi edema berturut-turut sebesar

83,95%, 79,01%, dan 80,25%. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun ashitaba memiliki aktivitas antiinflamasi.

Kata Kunci: kata Ashitaba, *Angelica keiskei*, *tommorow's leaf*, antiinflamasi

PENDAHULUAN

Inflamasi atau radang merupakan proses respon tubuh terhadap rangsangan merugikan yang ditimbulkan oleh berbagai agen berbahaya seperti infeksi, antibodi, ataupun luka fisik. Inflamasi kronis seringkali menyebabkan ketidaknyamanan dan berpotensi menjadi penyebab terjadinya penyakit lain. Untuk menanggulangi hal itu diberikan suatu obat antiinflamasi. Obat anti inflamasi non steroid (OAINS) merupakan golongan obat yang sering digunakan dalam terapi inflamasi. Aktivitas anti inflamasi OAINS dimediasi melalui penghambatan biosintesis prostaglandin. Efek samping mayor yang dapat timbul akibat konsumsi OAINS ialah iritasi dan ulserasi pada gastrointestinal(1). Oleh karena itu, perlu dilakukan pencarian dan pengembangan obat anti inflamasi baru dengan efek yang sama atau lebih baik dengan efek samping yang minimum. Dalam hal ini, para peneliti telah banyak menggunakan obat dari bahan alam sebagai salah satu solusi, salah satunya tumbuhan ashitaba.

Ashitaba merupakan tumbuhan tradisional yang berasal dari Jepang dan dikenal mempunyai banyak manfaat kesehatan. Tumbuhan tradisional tersebut telah diketahui mempunyai beragam manfaat kesehatan, diantaranya dapat berkhasiat sebagai antibakteri (2), vasodilator (3), antidiabetes (4), antitumor (5), antioksidan (6) dan juga sebagai antiinflamasi(7). Dalam sebuah review tentang efek farmakologis dari tanaman ashitaba menyebutkan bahwa senyawa kalkon merupakan salah satu senyawa yang terkandung dalam ashitaba yang berperan penting dalam efek farmakologisnya (8). Senyawa ini banyak terdapat pada daun dan batang tanaman ashitaba, termasuk

diantaranya xantoneol dan 4-hidroxyricine. Senyawa inilah yang membedakan ashitaba dengan tanaman sejenisnya dan telah diketahui senyawa ini dapat bekerja sebagai anti inflamasi (9).

Pada penelitian sebelumnya, (7) telah membuktikan bahwa tanaman ashitaba memiliki aktivitas antiinflamasi secara *in vitro*. Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol 70% daun ashitaba secara *in vivo* dengan metode induksi karagenan.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain neraca analitik, *blender*, alat destilasi, spatula, aluminium foil, kapas, kertas saring, lemari pendingin, desikator, alat-alat gelas (erlenmeyer, gelas ukur, dsb), *microwave*, *rotary evaporator*, kandang hewan, timbangan hewan, spuit, pipet tetes, sonde, pletismometer

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain daun ashitaba (*Angelica keiskei*), etanol 70%, aquadest, natrium diklofenak (Sigma Aldrich), Na-CMC 0,5%, karagenan, air raksa, NaCl Fisiologis 0,9%, alkohol 70%, dan eter, daun ashitaba.

Hewan Uji

Tikus putih jantan *Rattus norvegicus* galur Sprague-Dawley dengan bobot 150 – 250 gram usia 2 – 4 bulan sebanyak 30 ekor diperoleh dari Institut Pertanian Bogor. Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok

masing – masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus.

Prosedur

Pembuatan Suspensi Ekstrak Daun Ashitaba

Suspensi ekstrak etanol 70% daun ashitaba dibuat dengan mensuspensikan ekstrak dalam Na-CMC 0,5%. Suspensi dibuat sebanyak 20 ml dengan dosis ekstrak 1000, 2000, dan 4000 (mg/kgBB). Pemilihan dosis didasarkan pada hasil uji pendahuluan terhadap tiga kelompok dosis yakni 10, 100 dan 1000 mg/kgBB yang menunjukkan bahwa dosis 1000 memberikan efek yang paling mendekati kontrol positif.

Uji Aktivitas Antiinflamasi

Aktivitas antiinflamasi dari ekstrak diuji dengan metode telapak kaki tikus terinduksi karagenan dan dihitung dengan alat pletismometer (10). Penggunaan metode ini didasarkan atas perlakuannya yang sederhana, mudah dilakukan, dan lebih aman karena karagenan mampu menstimulasi edema tanpa menyebabkan cedera atau kerusakan jaringan pada telapak kaki tikus, sehingga metode ini merupakan metode yang sering digunakan dalam pengujian aktivitas antiinflamasi secara *in vivo*. Hewan uji dikelompokkan menjadi 5 kelompok; (i) Kelompok pertama ialah kontrol negatif yang diberikan suspensi Na-CMC 0,5%; (ii) Kelompok kedua ialah kontrol positif yang diberikan suspensi natrium diklofenak 5,14 mg/kg secara oral; (iii) Kelompok 3, 4, dan 5 diberikan suspensi ekstrak etanol 70% daun ashitaba secara oral dengan dosis 1000, 2000, dan 4000 mg/kg. Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Penentuan dosis 1000 mg, didasarkan pada uji pendahuluan dimana terhadap tiga dosis yakni 10 mg, 100 mg dan 1000 mg yang diuji, dosis 1000 mg memperlihatkan hasil yang paling baik.

Hewan uji yang telah diaklimatisasi dan ditimbang bobotnya diukur volume telapak

kaki kirinya untuk mendapatkan nilai V_0 . Kemudian setiap kelompok diberikan perlakuan oral (Na-CMC 0,5% untuk kelompok kontrol negatif; suspensi natrium diklofenak 5,14 mg/kg untuk kelompok kontrol positif; suspensi ekstrak etanol 70% daun ashitaba untuk kelompok uji). Karagenan 1% sebanyak 0,2 ml diinjeksi ke dalam telapak kaki kiri tikus secara subplantar 1 jam setelah pemberian perlakuan oral. Volume telapak kaki tikus diukur dengan menggunakan pletismometer. Pengukuran dilakukan setiap 1 jam hingga 5 jam setelah injeksi.

Udema telapak kaki diartikan sebagai perubahan volume yang terjadi pada telapak kaki tikus setelah diinjeksi karagenan. Persen udema dihitung dengan rumus sebagai berikut $(V_t - V_0)/V_0 \times 100\%$, dimana V_t ialah volume telapak kaki tikus pada jam ke t setelah injeksi karagenan, dan V_0 ialah volume awal telapak kaki tikus. Kemudian dari data persen udema dihitung nilai persen inhibisi udema dengan rumus berikut $(A - B)/A \times 100\%$, dimana A ialah rata-rata persen udema kelompok kontrol negatif dan B ialah rata-rata persen udema kelompok uji.

Analisa Data

Data yang diperoleh dihitung secara statistik dengan metode *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan metode *Mann-Whitney* dengan level kepercayaan 95% ($p < 0.05$) menggunakan aplikasi SPSS versi 22.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengumpulan Sampel dan Ekstraksi

Sebanyak 7 kg daun ashitaba yang diperoleh dari Balai Tanaman Manoko Bandung dan telah dideterminasi di Pusat Konversi Tumbuhan Kebun Raya, LIPI, Bogor menghasilkan simplisia sebanyak 1,1 kg daun ashitaba. Proses ekstraksi menghasilkan ekstrak etanol 70% daun ashitaba sebanyak 130 gr dengan rendemen sebesar 11,81%.

Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol 70% Daun Ashitaba

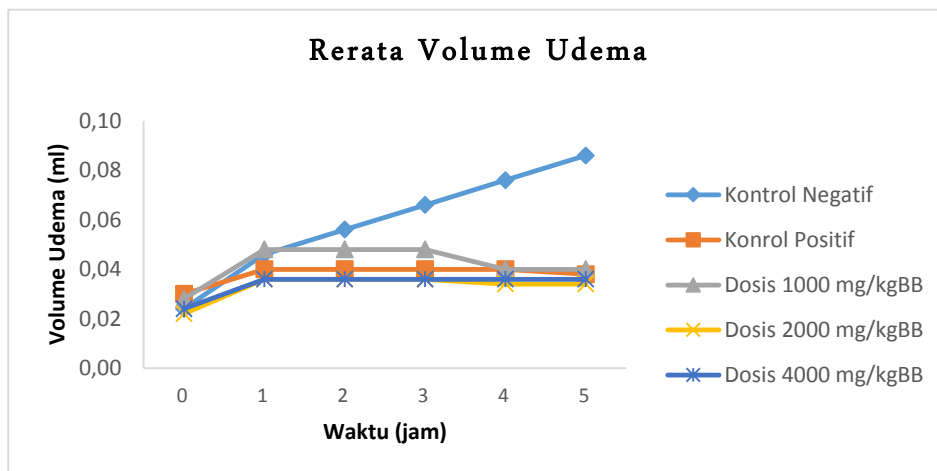
Pengujian aktivitas antiinflamasi pada penelitian ini dilakukan secara *in vivo* dengan metode pengukuran udema telapak kaki tikus yang diinduksi karagenan (10). Grafik 1 menunjukkan rerata volume udema telapak kaki tikus. Kelompok kontrol negatif menunjukkan peningkatan volume udema dari jam pertama hingga jam ke-5. Hal ini menunjukkan tidak adanya aktivitas penghambatan udema yang dihasilkan oleh Na-CMC 0,5%. Nilai persen udema dapat diketahui dari data volume udema. Nilai persen udema ini digunakan untuk melihat adanya peningkatan ataupun penurunan volume udema tanpa dipengaruhi oleh volume awal atau volume normal telapak kaki tikus. Rerata persen udema masing-masing kelompok dapat dilihat pada Grafik 2. Terlihat nilai persen udema pada kelompok kontrol negatif menunjukkan kenaikan secara konstan hingga jam ke-5. Hal ini menunjukkan bahwa karagenan 1% dengan volume penyuntikan 0,2 ml merupakan agen penduksi udema yang baik dan dapat menimbulkan udema yang signifikan. Adanya peningkatan udema hingga jam ke-5 ini juga berhubungan dengan durasi kerja karagenan dalam mendinguksi udema yang mampu bertahan sampai 6 jam(11).

Hasil analisa data statistik menunjukkan bahwa persentase udema kelompok uji dosis 1000; 2000; dan 4000 mg/kg berbeda secara bermakna dengan kontrol negatif ($p \leq 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun ashitaba dosis 1000; 2000; dan 4000 mg/kg aktif sebagai agen antiinflamasi. Sedangkan jika dibandingkan dengan kontrol positif, ketiga dosis uji memiliki perbedaan yang bervariasi. Kelompok uji dosis 1000 mg/kg berbeda secara bermakna dengan kontrol positif pada jam ke-1 hingga jam ke-3 ($p \geq 0.05$); Kelompok uji dosis 2000 mg/kg berbeda secara bermakna dengan kontrol positif pada jam ke-2 hingga jam ke-5 ($p \geq 0.05$); dan kelompok uji dosis 4000 mg/kg

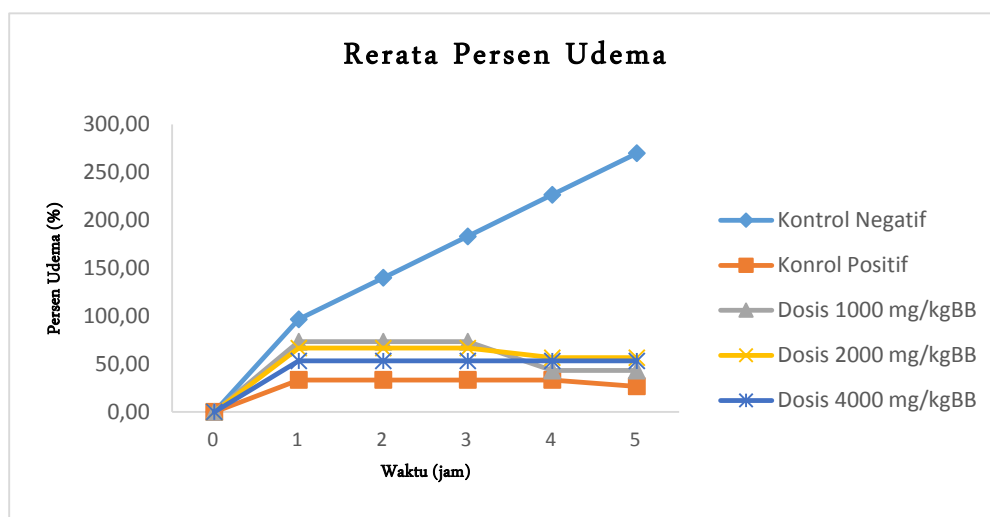
berbeda secara bermakna dengan kontrol positif hanya pada jam ke-5 ($p \geq 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa dosis uji 4000 mg/kg memiliki aktivitas antiinflamasi yang paling mendekati kontrol positif dibanding dosis uji lain karena tidak berbeda secara bermakna mulai jam ke-1 hingga jam ke-4 ($p \leq 0.05$).

Data rerata persen udema dapat digunakan untuk menentukan nilai penghambatan (inhibisi) udema pada masing-masing kelompok. Data inhibisi ini menunjukkan kemampuan dari masing-masing kelompok dalam menghambat udema pada telapak kaki tikus. Hasil persentase inhibisi udema dapat dilihat pada Tabel 1. Data persen inhibisi udema menunjukkan bahwa kelompok dengan nilai persen inhibisi udema terbesar ialah kelompok kontrol positif sebesar 90,12%, disusul kelompok dosis uji 1000, 4000, dan 2000 mg/kg dengan nilai persen inhibisi udema masing-masing kelompok secara berurutan sebesar 83,95%, 80,24%, dan 79,01%. Hubungan nilai persen inhibisi udema antarkelompok dengan waktu pengukuran dapat dilihat pada Grafik 3.

Kelompok uji dosis 4000 mg/kg memiliki nilai persen inhibisi paling tinggi diantara kelompok dosis uji lain pada jam ke-1 hingga jam ke-3. Sedangkan pada jam ke-4 dan ke-5 kelompok uji yang memiliki nilai persen inhibisi paling tinggi ialah kelompok uji dosis 1000 mg/kg. Berdasarkan mekanisme kerja dari karagenan dalam menimbulkan udema, kelompok uji dosis 4000 mg/kg kemungkinan memiliki aktivitas penghambatan bradikinin lebih tinggi dibanding kelompok uji lain, dan kelompok uji dosis 1000 mg/kg kemungkinan memiliki aktivitas penghambatan protaglandin lebih tinggi dibandingkan kedua kelompok uji lainnya (12). Hasil analisa data statistik menunjukkan bahwa perbandingan antara ketiga kelompok uji memiliki perbedaan yang tidak bermakna ($p \geq 0.05$).



Grafik 1. Grafik rerata volume udema



Grafik 2. Grafik rerata persen udema

Tabel 1. Persen inhibisi udema

Kelompok	Persen Inhibisi Udema Jam ke- (%)				
	1	2	3	4	5
Kontrol Positif (Na-diklofenak 5,14 mg/kgBB)	65,52	76,19	81,82	85,29	90,12
Dosis 1000 mg/kgBB	24,14	47,62	60,00	80,88	83,95
Dosis 2000 mg/kgBB	31,03	52,38	63,64	75,00	79,01
Dosis 4000 mg/kgBB	44,83	61,90	70,91	76,47	80,25

KESIMPULAN DAN SARAN**KESIMPULAN**

Ekstrak etanol 70% daun ashitaba dosis 1000 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB, dan 4000 mg/kgBB mampu menghambat pembentukan uedema pada telapak kaki tikus dan aktif sebagai agen antiinflamasi secara *in vivo* yang belum setara dengan kontrol positif (natrium diklofenak). Ekstrak etanol 70% daun ashitaba dosis 1000 mg/kgBB memiliki aktivitas antiinflamasi paling baik dibandingkan dosis 2000 mg/kgBB dan 4000 mg/kgBB. Hasil analisis data statistik aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol 70% daun ashitaba dosis 1000 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB, dan 4000 mg/kgBB memiliki perbedaan yang tidak bermakna ($p \geq 0,05$).

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Tilo Grosser, Emer Smith GAF. Goodman & Gilman's. 2011. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. p. 959–1000.
- [2] Inamori Y, Baba K, Tsujibo H, Taniguchi M, Nakata K, Kozawa M. 1991. Antibacterial Activity of Two Chalcones, Xanthoangelol and 4-Hydroxyderricin, Isolated from the Root of *Angelica keiskei* Koidzumi. *Chem Pharm Bull*. 39(6):1604–5.
- [3] Matsuura M, Kimura Y, Nakata K, Baba K, Okuda H. 2001. Artery Relaxation Chalcones Isolated from the Roots of *Angelica keiskei*. *Planta Med*. 2000;67:230–5.
- [4] Ugiyama KAS, Anabe MAT, Obayashi EIJK. 2007. Antidiabetic Activities of Chalcones Isolated from a Japanese Herb, *Angelica keiskei*. *J.Agric FoodChem*. 55:6013–7.
- [5] Kimura Y. 2008. Antitumor and Antimetastatic Actions of Various Natural Products. *Stud Nat Prod Chem*. 34(C):35–76.
- [6] Kwon D, Yoon S, Carter O, Bailey GS. 2006. Antioxidant and antigenotoxic activities of *Angelica keiskei*, *Oenanthe javanica* and *Brassica oleracea* in the *Salmonella* mutagenicity assay and in HCT116 human colon cancer cells. *Bio Factors*. 26.26:231–44.
- [7] Lee HJ, Kim HJ, Choi S, Kim S, Sethi G, Ahn KS. 2010. 1 1 1 1. ;13(3):691–9.
- [8] Caesar LK, Cech NB. 2006. A Review of the Medicinal Uses and Pharmacology of *Ashitaba*. *Planta med*.
- [9] Hsieh H, Tsao L, Wang J. 2006. Synthesis and Anti-inflammatory Effect of Chalcones. *J Pharm Pharmacol*. 52:163–71.
- [10] Winter CA, Risley EA, Nuss GW. 1962. Carrageenin-Induced Edema in Hind Paw of Rat as an Assay for Antiinflammatory Drugs. *Exp Biol Med*. 1–5.
- [11] Morris CJ. 2003. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. *Methods Mol Biol*. 225:115–21.