

UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI FRAKSI N-HEKSAN DAUN CENDANA (*Santalum album* Linn.) TERHADAP OEDEM TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI KARAGENAN

Ni Made Puspawati*, I Wayan Suirta, Ni Luh Putu Mega Wahyuni, Ni Ketut Ratnayani

Program Studi Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Bali

* nmpuspa_65@yahoo.co.id

ABSTRAK: Cendana (*Santalum album* L.) umumnya digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati inflamasi (bengkak). Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antiinflamasi fraksi n-heksan ekstrak daun cendana (*Santalum album* L.) terhadap udema pada telapak kaki tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi karagenan dan mengidentifikasi senyawa aktifnya. Pada pengujian aktivitas antiinflamasi digunakan 5 kelompok tikus yaitu kelompok kontrol positif (na-diklofenak 5 mg/kg BB), kelompok kontrol negatif (CMC 1%) dan 3 kelompok perlakuan (dosis fraksi n-heksan 125 mg/kg BB, 250 mg/kg BB, dan 500 mg/kg BB). Hasil uji aktivitas antiinflamasi menunjukkan pada menit ke-360 fraksi n-heksana pada dosis 125 mg/kg BB dan 250 mg/kg BB mampu menghambat udema telapak kaki tikus berturut-turut sebesar 80,39% dan 82,35% lebih tinggi dari kontrol positif yaitu 66,66%. Sedangkan pada dosis yang lebih tinggi 500 mg/kg BB aktivitasnya menurun dan lebih rendah dari kontrol positif yaitu sebesar 44,12%. Hasil uji *One Way* ANOVA menunjukkan bahwa pemberian dosis 125 mg/kg BB dan dosis 250 mg/kg BB tidak memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol positif, sedangkan untuk dosis 500 mg/kg BB memiliki tidak memiliki perbedaan bermakna dengan kontrol negatif. Analisis GC-MS menunjukkan bahwa fraksi n-heksan daun cendana mengandung senyawa 2,2,4-trimetil-1,3-pentanadiol diisobutirat; metil palmitat; metil linoleat; metil oleat; di(2-etilheksil) terephtalat; dan asaron.

Kata Kunci : antiinflamasi, cendana (*Santalum album* L.), udema, GC-MS

ABSTRACT: Sandalwood (*Santalum album* L.) is commonly used as a traditional medicine to treat inflammation. The aim of this research were to evaluate antiinflammatory activity of n-hexane fraction of cendana leaves extract and to characterise its active compounds. The anti-inflammatory activity test was conducted using 25 Wistar rats which were divided into five groups: group 1 treated with carrageenan (control negative), group 2 treated with standar drug (sodium diclofenac) whereas group 3,4, and 5 treated with different doses (125, 250, and 500 mg/kg/BW) of n-hexane fraction of *santalum album* leaves extract along with carrageenan respectively. The active constituent was charactersised using GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometer). The anti-inflammatory test demonstrated that the n-hexane fraction of *santalum album* leaves reduced carrageenan induced rats paw edema in a dose dependent manner. The n-hexane fraction at dose of 125 and 250 mg/kg BW showed potent inhibition of inflammation after 6 hours which can inhibit inflammation by 80.39 and 82.35% respectively as compared to positive control (66.66%). Further increase in dose i.e 500 mg/kg BW decreased the activity to 44.12%. Statistical analysis showed that antiinflammatory activity of n-hexane fraction at doses 125 mg and 250 mg/kgBW did not significantly different to control positif while at dose of 500 mg/kgBW did not significantly different to control negative. The active compounds were tentaviley identified as 2,2,4-trimethyl-1,3-pentandiol diisobutyrate, hexadecanoic acid, methyl ester; octadeca,9,12-dienoic acid, methyl ester, 9-octadecenoic acid, methyl ester, terephtalic acid, 2-ethylhexyl undecyl ester, and asarone.

Keywords: antiinflammatory, carrageenan, Cendana (*Santalum album*, L), edema.

1. PENDAHULUAN

Inflamasi merupakan suatu respon pertahanan tubuh yang digunakan untuk melawan agen penyebab kerusakan sel pada suatu organisme yang ditandai dengan adanya kemerahan pada bagian tubuh, terasa panas, adanya tumor, terasa nyeri, dan sakit [1]. Inflamasi dapat diobati jika terdapat senyawa yang mampu menghambat aktivasi dari enzim siklooksigenase dan lipooksigenase yang dikenal sebagai senyawa antiinflamasi. Senyawa antiinflamasi dapat dibagi menjadi dua golongan yaitu golongan steroid (senyawa antiinflamasi yang sangat kuat karena mampu menghambat enzim fosfolipase) dan golongan non-steroid (senyawa antiinflamasi yang lemah karena menghambat enzim siklooksigenase) [2].

Salah satu strategi yang digunakan dalam pencarian dan pengembangan obat antiinflamasi baru dengan efek samping yang rendah yaitu dengan pemanfaatan senyawa bahan alam. Salah satu tumbuhan yang digunakan dalam pengobatan inflamasi adalah cendana (*Santalum album* L).

Minyak atsiri cendana diperoleh dari batang pohon cendana dan akar pohon cendana sering digunakan sebagai antiinflamasi [3]. Ekstrak metanol dari batang cendana juga memiliki potensi antiinflamasi [4]. Prasad *et al* melaporkan kandungan kimia ekstrak metanol daun cendana yaitu terpenoid, glikosida jantung, tanin, fenol, flavanoid, dan alkaloid [5]. Sejauh ini penelitian tentang aktivitas pada daun cendana belum banyak dilaporkan. Dari hasil uji pendahuluan aktivitas antiinflamasi pada ekstrak metanol dan fraksi n-heksan daun cendana pada dosis 250 mg/kg BB, menunjukkan bahwa fraksi n-heksan memiliki daya hambat terhadap udemata telapak kaki tikus yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak methanol. Maka dari itu penulis tertarik melakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi fraksi n-heksan daun cendana terhadap udemata tikus putih jantan galur

Wistar yang diinduksi karagenan dan mengidentifikasi senyawa aktifnya.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia dan Laboratorium Hewan Uji, Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas.

A. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu blender, gunting, neraca analitik, gelas beker, labu ukur 10 mL, corong pisah, pipet volume, cawan porselen, aluminium foil, spuit 3 mL, inkubator, kandang tikus, tutup kandang tikus, botol minum tikus, plestismometer, botol vial 30 ml, neraca analitik, gelas beker, corong pisah, pipet tetes, spatula, aluminium foil, plat KLT, lampu UV, kolom, blender, gunting, Erlenmeyer, tabung reaksi, penguap putar vakum, GC-MS QP-2010S SHIMADZU.

Bahan yang digunakan yaitu daun cendana, lambda karagenan 1%, n-diklofenak, natrium klorida 0,9%, suspensi CMC 1%, merkuri, metanol teknis, n-heksan, n-butanol, kloroform, etil asetat, Pereaksi Meyer, pereaksi LB (H_2SO_4 pekat+asam asetat anhidrat), HCl, $FeCl_3$, Mg, silika gel GF, hand scoon, masker, tikus putih jantan galur Wistar, pelet merk ABS dan air mineral.

B. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan fraksi n-heksan daun cendana

Sebanyak 1 kg daun cendana dimaserasi dengan metanol teknis selama 3x24 jam. Setiap 24 jam pelarutnya diganti dengan yang baru. Ekstrak yang diperoleh disaring menggunakan kertas saring sehingga memperoleh ekstrak dan residu. Ekstrak hasil maserasi ditampung dan residunya dimaserasi kembali dengan menggunakan pelarut metanol yang baru. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan lalu diuapkan dengan *vacum rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental metanol. Ekstrak kental metanol dipartisi dengan n-

heksan, Partisi ini dilakukan dalam corong pisah.

2. Pengujian aktivitas antiinflamasi fraksi n-heksan daun cendana

Pada pengujian aktivitas antiinflamasi fraksi n-heksan digunakan hewan uji yaitu tikus putih jantan galur Wistar sebanyak 25 ekor dan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol positif diberikan n-diklofenak dengan dosis 5 mg/kg BB, kelompok kontrol negatif hanya diberikan suspensi CMC 1%, dan 3 kelompok perlakuan yang diberikan 3 variasi dosis yaitu dosis 125 mg/kg BB, 250 mg/kg BB, dan 500 mg/kg BB.

Sebelum melakukan pengujian, volume kaki tikus diukur terlebih dahulu dan dicatat sebagai V_0 . Kemudian larutan uji maupun obat perbandingan diberikan sebanyak 1 mL dilakukan secara per oral (sonde). Sedangkan karagenan diinjeksi secara subkutan pada daerah suplantar sebanyak 0,15 ml berselang 1 jam setelah pemberian ekstrak maupun obat perbandingan. Setelah 60 menit injeksi karagenan, volume oedem masing-masing telapak kaki kiri tikus diukur dan dicatat sebagai V_t . Pengukuran volume oedem dilakukan setiap 60 menit selama 6 jam. Volume inflamasi diperoleh dari :

$$\text{Volume Inflamasi} = V_t - V_0 \quad (1)$$

Setelah pengamatan maka persentase inflamasi kaki kiri tikus putih jantan dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Inflamasi} = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100\% \quad (2)$$

V_t = Volume oedem kaki tikus pada waktu t

V_0 = Volume oedem awal kaki tikus

Sedangkan persentase hambatan inflamasi dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Hambatan Inflamasi} = \frac{a-b}{a} \times 100\% \quad (3)$$

a = Persen inflamasi rata-rata kelompok kontrol negatif

b = Persen inflamasi kelompok perlakuan bahan uji atau obat perbandingan

3. Analisis data

Data dari hasil perhitungan %hambatan inflamasi ini akan dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji normalitas Shapiro-Wilk untuk mengetahui apakah suatu variable normal atau tidak. Apabila distribusi data normal dan homogen dengan $p > 0,05$, maka analisis dilanjutkan dengan ANOVA *one* menggunakan program SPSS dengan hipotesis statistik yaitu nilai $p < 0,05$ sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima dan sebaliknya $p > 0,05$ sehingga H_1 ditolak dan H_0 diterima. H_0 yaitu tidak ada perbedaan bermakna antara nilai persentase hambatan inflamasi minimum 1 pasang kelompok uji per satuan waktu; H_1 yaitu ada perbedaan bermakna antara nilai persentase hambatan inflamasi minimum 1 pasang kelompok uji per satuan waktu. Selanjutnya untuk perhitungan dosis efektif tengah (ED_{50}) dari aktivitas antiinflamasi fraksi n-heksan akan dilakukan analisa probit.

4. Pemisahan dan identifikasi senyawa aktif pada fraksi n-heksan

Pemisahan senyawa aktif dilakukan dengan teknik kromatografi kolom elusi gradien, menggunakan fase diam yaitu silika gel, sedangkan fase gerak yang digunakan yaitu n-heksan, diklorometan, etil asetat, dan metanol, masing-masing sebanyak 150 mL. Pemisahan ini diawali dengan packing kolom, dengan cara silika gel yang telah diaktivasi selama 4 jam pada suhu 100°C ditambahkan dengan sedikit n-heksana sampai menyerupai bubuk. Pada kolom, dimasukkan sedikit kapas pada bagian bawah kolom yang berfungsi sebagai penahan fase diam. Lalu silika tersebut dimasukkan kedalam kolom secara perlahan. Setelah kolom terisi penuh maka fraksi n-heksan daun cendana dimasukkan kedalam kolom kurang lebih 1,5 g. Aliran kolom diatur kecepatannya hingga 1 mL/menit. Eluat ditampung setiap 25 mL dalam satu botol penampung. Elusi dihentikan setelah diperkirakan semua

Tabel 1. Pesentase Inflamasi Rata-rata Untuk Setiap Kelompok Percobaan

Waktu (menit)	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
60	100	110	113	83	130
120	120	175	151	108	183
180	120	185	147	113	213,33
240	90	150	77	85	150
300	95	160	60	63	125
360	56.67	170	33	35	95

pelarut habis. Setiap botol eluat dideteksi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. Eluat yang memiliki pola pemisahan atau pola noda yang sama digabungkan, kemudian diidentifikasi dengan GC-MS QP-2010S SHIMADZU, database NIST08s dan WILEY.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas antiinflamasi fraksi *n*-heksan daun Cendana

Pengukuran volume edema rata-rata telapak kaki kiri tikus putih jantan yang diinduksi karagenan 1% (b/v) maka dengan menggunakan rumus 2 diperoleh nilai persen inflamasi yang hasilnya disarikan pada Tabel 1. Karageenan yang digunakan mampu menyebabkan edema pada telapak kaki tikus yang cenderung meningkat dari menit ke-60 sampai menit ke-360 dengan persen inflamsi yang lebih tinggi dari kelompok perlakuan 1, perlakuan 2, dan kelompok kontrol positif.

Kelompok perlakuan 1 (dosis 125 mg/kg BB) dan kelompok perlakuan 2 (dosis 250 mg/kg BB) pada menit ke-360 memiliki persen inflamasi yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif maupun kontrol negatif. Untuk kelompok perlakuan 3 menunjukkan persen inflamasi yang lebih tinggi dari kontrol negatif dari menit ke-60 sampai menit ke-180, namun pada menit ke-300 dan ke-360 persen inflamasinya menurun dan lebih rendah dari kontrol negatif.

Persentase hambatan inflamasi dihitung dengan rumus 3 dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 2. Dapat dilihat

bahwa pada menit ke-60 kelompok perlakuan 1 belum menunjukkan hambatan inflamasi, namun pada menit ke-120 mulai memperlihatkan hambatan terhadap inflamasi dan pada menit ke-240 sampai ke-360 memberikan hambatan inflamasi yang lebih tinggi dari kontrol positif yaitu berturut-turut sebesar 62,50 dan 80,39 %. Pada kelompok perlakuan 2, pada menit ke-60 sudah mampu menghambat inflamasi dengan persen hambatan inflamasi yang lebih tinggi dari kontrol positif dan pada menit ke-360 menunjukkan hambatan inflamasi yang tertinggi yaitu sebesar 82.35%. Sedangkan kelompok perlakuan 3 dari menit ke-60 sampai menit ke-180 tidak memberikan hambatan inflamasi tetapi pada menit ke-240 dan menit ke-360 menunjukkan hambatan inflamasi berturut-turut sebesar 26,79 dan 44,12% meskipun hambatan inflamasinya jauh lebih rendah dari kelompok perlakuan 1, perlakuan 2, dan kontrol positif.

Hasil uji aktivitas antiinflamasi fraksi *n*-heksana daun cendana menunjukkan bahwa hambatan inflamasi bergantung pada dosis yang diberikan. Pemberian dosis 125 mg/kg BB dan 250 mg/kg BB menunjukan hambatan inflamasi yang lebih tinggi dari kontrol positif, namun ketika dosis yang diberikan ditingkatkan menjadi 500 mg/kg BB, hambatan inflamasi yang diberikan menurun dan jauh lebih rendah dari kontrol positif maupun kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2. Hal ini mungkin disebabkan pada pemberian ekstrak dengan dosis 500 mg telah melebihi dosis efektifnya, kelebihan dosis ini dapat menyebabkan timbulnya radang. Menurut Kurniawati dan

Tabel 2. Persentase Hambatan Inflamasi Rata-rata Untuk Setiap Kelompok Uji

Waktu (menit)	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
60	9.09	0	-3.03	24.25	-18.18
120	31.43	0	13.33	38.10	-4.76
180	35.14	0	20.72	38.74	-15.32
240	40.00	0	48.89	43.33	0,00
300	40.63	0	62.50	60.42	26,79
360	66.66	0	80.39	82,35	44,12

Fitriyani terdapat beberapa jenis obat dalam dosis yang tinggi justru menyebabkan pelepasan histamine secara langsung dari *mast cell* sehingga mengakibatkan pembuluh darah menjadi lebih permeable terhadap cairan plasma dan menimbulkan proses peradangan (terjadi proses imunologi) [6,7]. Dari hasil analisis probit, efektif dosis yang mampu menghambat radang sebesar 50 % (ED₅₀) adalah 34,43 mg/kg BB. Penelitian lanjutan pada pemberian dosis yang lebih rendah dari 125 mg perlu dilakukan untuk melihat hubungan antara dosis dan aktivitas antiinflamasi fraksi *n*-heksana daun cendana.

Analisis data

Dari hasil uji normalitas dan homogenitas diketahui bahwa data persen hambatan inflamasi berdistribusi normal dan homogen dengan $p > 0,05$. Sehingga dilanjutkan dengan uji *One Way* ANOVA dengan post hoc test yaitu uji LSD. Dari hasil uji *One Way* ANOVA diketahui bahwa kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2 tidak memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol positif dan memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol negatif sedangkan kelompok perlakuan 3 memiliki perbedaan dengan kelompok kontrol positif dan tidak memiliki perbedaan bermakna dengan kontrol negatif. Hal tersebut menunjukkan bahwa kelompok perlakuan 1 dan 2 memiliki aktivitas sebagai *agent* antiinflamasi sebab memiliki aktivitas yang tidak berbeda secara bermakna dengan

kelompok kontrol positif. Sedangkan kelompok perlakuan 3 tidak memiliki aktivitas sebagai *agent* antiinflamasi sebab memiliki aktivitas yang tidak berbeda secara bermakna dengan kontrol negatif.

Pemisahan dan identifikasi senyawa aktif pada fraksi *n*-heksan

Dari hasil pemisahan dengan kromatografi kolom diperoleh 24 eluat. Hasil deteksi pola noda dengan KLT menggunakan fase gerak yaitu *n*-heksan : etil asetat (1 : 9) diperoleh 7 eluat gabungan. Dari ke-7 eluat dari hasil KLT penggabungan terdapat 2 eluat yang memiliki 1 noda yaitu eluat B, dan G. Maka dari itu 2 eluat tersebut yang dilanjutkan untuk diidentifikasi dengan menggunakan instrument GC-MS.

Dari hasil GC-MS diketahui bahwa eluat B kemungkinan mengandung senyawa 2,2,4-trimetil-3-karboksiisopropil, asam pentanoat, isobutyl ester, metil palmitat, metil linoleat, metil oleat, dan asam terephtalik di(2-etilheksi)ester. Sedangkan pada eluat G kemungkinan mengandung senyawa 2,2,4-trimetil-3-karboksiisopropil, asam pentanoat, isobutyl ester, asaron, metil palmitat, metil linoleat, dan metil oleat.

Dari ke-enam senyawa yang terdeteksi tersebut, beberapa senyawa diketahui aktif sebagai antiinflamasi yaitu senyawa metil palmitat yang aktif sebagai *agent* antiinflamasi dengan menghambat aktivitas enzim fosfolipase A₂ [8], metil linoleat juga memiliki potensi sebagai *agent* antiinflamasi [9], metil oleat memiliki

aktivitas sebagai *agent* antiinflamasi [10], dan senyawa asaron juga memiliki potensi sebagai *agent* antiinflamasi dengan menghambat aktivitas dari enzim COX-1 dan COX-2 [11].

4. KESIMPULAN

Fraksi *n*-heksana daun cendana aktif sebagai antiinflamasi pada pemberian dengan dosis 125 mg/kg BB dengan persentase hambatan inflamasi sebesar 80,39% dan 250 mg/kg BB dengan persen hambatan inflamasi 82,35%. Hasil identifikasi dengan GC-MS menunjukkan senyawa yang terdapat pada fraksi aktif antiinflamasi *n*-heksana daun cendana meliputi senyawa 2,2,4-trimetil-1,3-pentandiol diisobutirat, metil palmitat, metil linoleat, metil oleat, di(2-etilheksil) terephthalat, dan asaron.

5. DAFTAR PUSTAKA

- [1] Price S. A. and L.M. Wilson, 2000, *Pathofisiologi, Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*, 6th ed., Jakarta : Buku Kedokteran EGC
- [2] Katzung, B.G., 2002, *Farmakologi Dasar dan Klinik*, 8th ed., Vol. 2, Salemba Medika, Jakarta.
- [3] Howes, M.J.R., Simmonds, M.S.J., and Kite, G.C., 2004, Evaluation of the quality of sandalwood essential oils by gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1028: 307-312.
- [4] Saneja, A., Kaushik, P., Kaushik, D., Kumar, S., and Kumar, D. (2009). Anti-oxidant, analgesic and anti-inflammatory activities of *Santalum album* Linn. *Planta Medica*, 75: 102
- [5] Prasad M.P, Soumnya M. and Brinda, 2014, *Phytochemical Screening and In-Vitro Evaluation of Anti-Oxidant and Anti-Bacterial Properties of Medicinal Plants*, Vol 3.1, Bangalore, India
- [6] Kurniawati, A., 2005, Uji Aktivitas Anti Inflamasi Ekstrak Metanol

Graptophyllum griff pada Tikus Putih, *Majalah Kedokteran Gigi Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional IV*, 11-13

- [7] Fitriyani, A., Lina Winarti, Siti Muslichah, Nuri, 2011, Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) pada Tikus Putih, *Majalah Obat Tradisional*, 16(1), 34-42
- [8] Arpana, V., Kalarickal V., Dileep, Pradeep K., Mandal, Ponnuraj K., Chittakkottu S., and Madathilkovilakathu H., 2012, Anti-inflammatory Property of *n*-Hexadecanoic Acid: Structural Evidence and Kinetic Assessment, (Ed.), *Chem Bio Drug*, 80: 434-439
- [9] Krishnamoorthy, K., Subramaniam P., 2014. Phytochemical Profiling of Leaf, Steam, and Tuber Parts of *Solena amplexicaulis* (Lam.) Gandhi Using GC-MS, *International Scholarly Research Notices*, 2014: 13 pages
- [10] Rajalaksmi, K., V.R., Mohan, 2016, Determination Of Bioactive Components of *Myxopyrum serratum* A.W. Hill (Oleaceae) Stem By GC_MS Analysis, *International Research Journal Of Pharmacy*, 7 (7): 36-42
- [11] Momin, R.A., de Witt D.L., Nair M.G., 2003, Inhibition of cyclooxygenase (COX) enzymes by compounds from *Daucus carota* L. seeds, *Phytother. Res.* 17: 976-979

