

AKTIVITAS ANTIINFLAMASI SENYAWA BIOAKTIF DARI KULIT BATANG PAUH KIJANG (*Irvingia malayana* Oliv. ex. A. Benn) TERHADAP TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI KARAGENAN

Ari Widiyantoro ^{*1}, Lia Destiarti ¹, Indri Kusharyanti ², Supardi ²,
Dedy Gunawan Halim ², Niwick ², dan Vonny Willianti ²

¹Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura
Jl. A. Yani Pontianak 78124, Telp./Faks. 0561-585343

² Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Tanjungpura
Jl. A. Yani Pontianak 78124, Telp./Faks. 0561-583865

*e-mail : ariyant2@yahoo.com

Abstract

Antiinflammatory activity extract stem bark of Pauh Kijang (Irvingia malayana Oliv. ex. A. Benn) was investigated on male white rats (Rattus norvegicus) of Sprague Dewley strain. The result of this research showed the methanol extract reduce edema 82,34±6,56 % (dosage 1,0 mg/kg BW) and isolated antiinflammation dimethyl ellagat acid (NMR-¹H, NMR-¹³C, DEPT-90 and DEPT-135) reduce edema 67,34±2,91 % (dosage 1,0 mg/kg BW)

Keywords : *Irvingia malayana* Oliv. ex. A. Benn, antiinflammatory, *Rattus norvegicus*

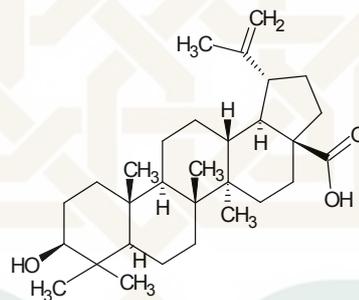
A. Pendahuluan

Pauh Kijang (*Irvingia malayana* Oliv. ex. A. Benn) adalah salah satu tumbuhan dalam famili Simaroubaceae yang dalam beberapa jurnal penelitian 5 tahun terakhir mulai dimasukkan dalam famili Irvingiaceae (Pouplin *et al.*, 2007). Tumbuhan ini tumbuh di kawasan Asia Tenggara seperti Indonesia, Malaysia, Kamboja, Thailand dan Vietnam (Bandelier *et al.*, 2002).

Informasi ilmiah menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun tumbuhan Pauh Kijang (konsentrasi 10 µg/mL) memiliki efek farmakologi sebagai antimalaria dengan hambatan sebesar 95% terhadap *Plasmodium falciparum* FcB1. Selain itu juga mempunyai sifat sitotoksik terhadap sel HeLa dengan IC₅₀ sebesar 11,7 µg/mL untuk ekstrak etanol dan 14,8 µg/mL untuk ekstrak metanol (Pouplin *et al.*, 2007). Sementara menurut Praptiwi dan Chairul, 2008, menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang Pauh Kijang konsentrasi 100 mg/kg BB mampu menurunkan tingkat parasitemia

sebesar 63,81% pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei* dan ekstrak etanol kulit batang Pauh Kijang pada penelitian tersebut mempunyai ED₅₀ 36,95 mg/kg BB. Pada penelitian lainnya, ekstrak kulit batang Pauh Kijang mempunyai aktivitas sitotoksik dengan IC₅₀ sebesar 59 µg/mL untuk ekstrak kasar metanol, 92 µg/mL untuk fraksi *n*-heksan, 30 µg/mL untuk fraksi metilen klorida, 22 µg/mL untuk fraksi etil asetat dan 33 µg/mL untuk fraksi metanol (Kusharyanti dkk., 2009). Aktivitas farmakologi lainnya dari tumbuhan Pauh Kijang adalah antimutagenik (Nakahara *et al.*, 2002) antikoolesterol, antikanker dan antipenuaan dini (Bandelier *et al.*, 2002).

Salah satu senyawa yang pernah diisolasi dari ekstrak metanol kulit batang Pauh Kijang yaitu asam betulinat (asam 3β-hidroksi-lup-20(29)-en-28-olat) (Gambar 1) yang menunjukkan aktivitas sitotoksik dan antiangiogenat (Ng *et al.*, 2010).



Gambar 1. Asam Betulinat (asam 3β-hidroksi-lup-20(29)-en-28-olat)

Masyarakat Kalimantan Barat secara tradisional memanfaatkan rendaman kulit batang Pauh Kijang sebagai penurun demam dan mengurangi radang, oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk melakukan uji aktivitas antiinflamasi berupa reduksi edema kaki tikus yang diinduksi karagenan setelah pemberian ekstrak dan senyawa dari kulit batang Pauh Kijang.

B. Metode

Pengambilan Sampel

Kulit batang Pauh Kijang diambil dari kawasan hutan Taman Nasional Gunung Palung Ketapang, Kalimantan Barat. Keakuratan spesies tumbuhan dideterminasi di Herbarium Bogoriense LIPI Bogor.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Sampel kulit batang Pauh Kijang dibersihkan lalu dikeringanginkan pada suhu kamar selama beberapa hari hingga kering mudah dipatahkan. Setelah kering sampel tersebut diserbukkan di Laboratorium *Workshop of Wood* Fakultas Kehutanan Universitas Tanjungpura dan diayak dengan ukuran 60 mesh. Serbuk kulit batang Pauh Kijang sebanyak 2 kg dimaserasi dengan metanol 80% (teknis) pada suhu kamar selama 2x24 jam. Ekstrak disaring dan filtratnya dikumpulkan, dimaserasi kembali dengan cara menambahkan metanol yang baru (sampai uji kromatografi lapis tipis menunjukkan tidak adanya noda). Seluruh filtrat dikumpulkan dan dipekatkan dengan evaporator, selanjutnya ditimbang untuk mengetahui rendemennya. Ekstrak metanol kemudian difraksinasi dengan *n*-heksan. Penelitian ini hanya membagi fraksi dalam kelompok polar (fraksi metanol) dan nonpolar (*n*-heksan). Hasil fraksinasi selanjutnya dipekatkan dengan evaporator dan ditimbang rendemennya.

Ekstrak metanol dan fraksi hasil partisi kemudian dilakukan uji antiinflamasi berupa penentuan reduksi edema terhadap kaki tikus jantan. Fraksi dengan aktivitas tertinggi dilanjutkan untuk pencarian senyawa antiinflamasi.

Pemisahan secara Kromatografi

Uji aktivitas antiinflamasi terhadap fraksi metanol dan *n*-heksan menunjukkan fraksi metanol mempunyai aktivitas antiinflamasi paling tinggi sehingga fraksi ini akan dilakukan pencarian senyawa bioaktif antiinflamasinya. Sebelum melakukan pemisahan dengan kromatografi terlebih dahulu dilakukan pencarian eluen untuk mengetahui kondisi pemisahan yang tepat. Eluen yang tepat dapat berupa eluen tunggal maupun

eluen campuran berbagai pelarut dengan perbandingan volume tertentu dan tercampur sempurna atau menunjukkan satu fasa. Sejumlah ekstrak dilarutkan dalam pelarut yang sesuai kemudian dilakukan analisis dengan kromatografi lapis tipis silika gel F₂₅₄ (tebal 0,2 mm; ukuran 5x1 cm; jarak elusi 4,5 cm) sampai diperoleh pola pemisahan yang baik untuk memilih eluen yang akan digunakan dalam kromatografi kolom. Setelah dilakukan variasi eluen diperoleh eluen dengan komposisi metilen klorida : etil asetat : metanol (1:1:3) untuk pemisahan secara kromatografi kolom vakum. Kromatografi kolom vakum menggunakan fasa diam silika gel 60 (230-400 mesh) dan dielusi dengan eluen tersebut dan diperoleh 5 fraksi gabungan yaitu A, B, C, D dan E. Fraksi B diteruskan pemisahannya secara kromatografi kolom gravitasi menggunakan fasa diam silika gel 60 (70-230 mesh) dengan eluen metilen klorida : etil asetat : aseton = (1:1:3) sehingga diperoleh 3 fraksi gabungan yaitu B1, B2, dan B3. Fraksi B2 dilanjutkan pemisahannya secara kromatografi kolom gravitasi dengan eluen etil asetat : metilen klorida = (1:1) dan diperoleh 2 fraksi gabungan yaitu B2.1 dan B2.2. Fraksi B2.2 menunjukkan spot tunggal sehingga dilakukan analisis spektrometri. Uji kemurnian terhadap isolat relatif murni (menunjukkan satu spot pada analisis KLT) dilakukan dengan KLT satu dan dua dimensi menggunakan beberapa macam eluen.

Penentuan Reduksi Udema

Uji aktivitas antiinflamasi atau antiradang dilakukan berdasarkan kemampuan ekstrak/fraksi/senyawa aktif mengurangi atau menekan derajat udema (pembengkakan karena radang) yang diinduksi zat penyebab radang pada hewan percobaan (Widiyantoro dkk., 2011). Induksi udema dilakukan pada kaki tikus dengan cara penyuntikan suspensi karagenan intraplantar. Ekstrak/fraksi dengan dosis 0,5; 1,0 dan 1,5 mg/kg BB sedangkan isolat murni dengan dosis 1,0 mg/kg BB diberikan secara oral 1 jam sebelum penyuntikan karagenan. Ukuran udema kaki diukur dengan alat yang bekerja berdasarkan hukum Archimedes (pletismometer). Aktivitas antiinflamasi larutan

uji ditunjukkan oleh kemampuannya mengurangi edema yang diinduksi karagenan pada kaki tikus.

Tikus jantan strain Spraque Dewley umur 2-3 bulan dengan bobot badan berkisar antara 200-250 g sebanyak 55 ekor dikelompokkan dalam kelompok, masing-masing 5 ekor. Diusahakan berat badan antar tikus tidak jauh berbeda. Volume telapak kaki kelompok kontrol dan kelompok uji dibandingkan secara statistik dengan uji t sehingga dapat disimpulkan apakah perbedaan yang diperoleh bermakna. Jika bermakna dihitung rata-rata % reduksi radang yang terjadi pada kelompok uji dengan rumus :

$$\% \text{ reduksi radang} = \frac{a - b}{a} \times 100\% \quad (1)$$

dimana a dan b, berturut-turut adalah volume rata-rata telapak kaki kelompok kontrol dan kelompok uji. Nilai % reduksi radang ini menunjukkan kemampuan ekstrak/fraksi/senyawa uji menekan radang (aktivitas antiinflamasi) dimana peradangan pada kelompok kontrol adalah 100%. Dosis efektif dari ekstrak/fraksi/senyawa uji adalah dosis ekstrak/fraksi/senyawa uji yang memberikan reduksi radang sebesar 25% dari radang pada kelompok kontrol.

Ukuran radang pada masing-masing kaki tikus dapat pula dihitung terhadap bagian kaki lainnya dari tikus yang sama sebelum penyuntikan karagenan. Perbandingan persentase reduksi radang dilakukan antara kelompok kontrol dengan kelompok uji. Pembengkakan kaki tikus kontrol positif harus > 30 % agar hasil dapat digunakan dengan baik.

C. Hasil dan Pembahasan

Sebanyak 2 kg serbuk kulit batang Pauh Kijang menghasilkan ekstrak kental metanol 124 g. Ekstrak kental metanol sebanyak 100 g dilarutkan dalam metanol dilanjutkan dengan partisi dengan *n*-heksan. Hasil partisi diperoleh fraksi *n*-heksan

sebanyak 14 g dan fraksi metanol sebanyak 66 g. Ekstrak kental metanol dan masing-masing fraksi hasil partisi dilakukan uji fitokimia dan uji aktivitas antiinflamasi. Ekstrak kental hasil maserasi dan fraksi kental hasil partisi dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui kandungan golongan senyawa metabolit sekundernya sehingga dapat diprediksi aktivitas biologiknya. Hasil uji fitokimia terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia terhadap Ekstrak dan Fraksi Hasil Partisi Kulit Batang Pauh Kijang

No.	Sampel	Alkaloid	Terpenoid	Flavonoid	Saponin	Steroid
1.	Ekstrak Metanol	+	+	+	-	+
2.	Fraksi Metanol	+	+	+	-	-
3.	Fraksi <i>n</i> -Heksan	-	-	-	-	+

Berdasarkan uji fitokimia menunjukkan bahwa fraksi polar (metanol) mengandung golongan senyawa alkaloid, terpenoid dan flavonoid, sedangkan fraksi nonpolar (*n*-heksan) mengandung golongan senyawa steroid. Struktur dari senyawa-senyawa metabolit sekunder akan mempengaruhi aktivitas biologik yang ditimbulkannya.

Untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi berupa penurunan edema maka dilakukan uji antiinflamasi terhadap ekstrak kental metanol dan dua fraksi hasil partisi yaitu fraksi metanol (polar) dan *n*-heksan (nonpolar). Hasil penurunan edema kaki tikus terdapat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Penurunan Volume Radang Akibat Pemberian Ekstrak dan Fraksi Hasil Partisi Kulit Batang Pauh Kijang

No.	Sampel	Dosis (mg/kg BB)	Penurunan Volume Radang (%) \pm SD		
			t1	t2	t3
1.	Aspirin	1,0	31,85 \pm 3,55 ^a	67,88 \pm 5,89 ^a	85,56 \pm 7,12 ^a
2.	Ekstrak Metanol	0,5	29,89 \pm 3,11 ^a	58,78 \pm 4,98 ^a	81,53 \pm 6,11 ^a
		1,0	30,24 \pm 2,11 ^a	59,72 \pm 4,45 ^a	82,34 \pm 6,56 ^a

		1,5	31,03±2,35 ^a	55,56±3,76 ^a	71,76±4,37 ^a
3.	Fraksi Metanol	0,5	21,05±2,89 ^b	32,29±3,01 ^b	51,89±4,11 ^b
		1,0	22,56±2,53 ^b	33,05±3,78 ^b	52,76±3,54 ^b
		1,5	23,78±1,90 ^b	33,43±2,09 ^b	53,89±3,09 ^b
4.	Fraksi <i>n</i> -Heksan	0,5	22,90±2,98 ^b	27,10±2,63 ^b	45,68±2,23 ^b
		1,0	23,12±2,93 ^b	27,88±2,34 ^b	46,90±3,44 ^b
		1,5	23,34±2,01 ^b	28,76±1,88 ^b	47,10±3,03 ^b

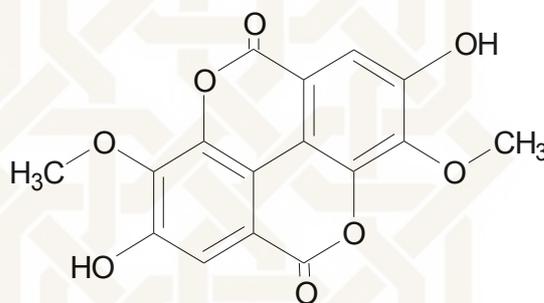
Keterangan : angka yang diikuti dengan huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak ada beda nyata ($\alpha=5\%$)

Berdasarkan Tabel 2 dapat diketahui bahwa ekstrak metanol pada dosis 1,0 mg/kg BB mempunyai aktivitas yang hampir sama (tidak ada beda nyata) dengan dosis 1,0 mg/kg BB pada kontrol positif (aspirin). Sementara pada fraksi metanol (polar) dosis 1,0 mg/kg BB dan fraksi *n*-heksan menunjukkan penurunan aktivitas antiinflamasi yang berbeda signifikan jika dibandingkan dengan aktivitas antiinflamasi ekstrak metanol. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa-senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak metanol kulit batang Pauh Kijang yang bersifat antiinflamasi cenderung bekerja secara sinergi. Penelitian juga menunjukkan bahwa efek antiinflamasi yang diberikan merupakan efek tergantung kadar di mana semakin besar kadar maka semakin besar pula efek antiinflamasinya.

Senyawa-senyawa antiinflamasi biasanya digolongkan dalam senyawa antiinflamasi nonsteroid dan senyawa antiinflamasi steroid. Dalam penelitian ini secara uji fitokimia steroid berada dalam fraksi nonpolar sedangkan nonsteroid berada pada fraksi polar kulit batang Pauh Kijang. Belum bisa diduga mekanisme yang dilalui sehingga masing-masing fraksi hasil partisi memberikan aktivitas antiinflamasi berupa penurunan edema yang lebih rendah bila dibandingkan ekstrak metanol (gabungan fraksi polar dan nonpolar).

Fraksi metanol menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang lebih tinggi dibandingkan fraksi *n*-heksan. Oleh karena itu penelitian fraksi metanol dilanjutkan untuk memperoleh senyawa murni antiinflamasinya. Salah satu isolat murni yang dihasilkan dalam penelitian ini adalah isolat B2.2 yang menunjukkan adanya kemurnian berdasarkan uji KLT 1 dan 2 dimensi dengan berbagai eluen. Isolat B2.2 yang diperoleh

selanjutnya dilakukan analisis spektrometri menggunakan NMR-¹H, NMR-¹³C, DEPT-135 dan DEPT-90. Data spektrometri tersebut menunjukkan bahwa isolat B2.2 merupakan turunan asam ellagat yaitu dimetil asam ellagat (Gambar 2). Data NMR-¹H (400 MHz) δ ppm : 7,53 (*s*, H-5,H-5'); 4,00(*s*, OMe-3'); 3,91 (*s*, OMe-3). Data NMR-¹³C (400 MHz) δ ppm :157,78 (C-7, C-7'); 151,80 (C-4, C-4'); 141,39 (C-2,C-2'), 140,40 (C-3, C-3'); 111,98 (C-6, C-6'); 111,30 (C-1, C-1'); 111,10 (C-5, C-5') dan 60,90 (OMe-3, OMe-3'). Data DEPT-135 menunjukkan adanya metin dan metil pada δ 111,10 dan 60,90 ppm. Data DEPT-90 menunjukkan adanya metin pada δ 111,10 ppm.



Gambar 2. Dimetil Asam Ellagat

Senyawa dimetil asam ellagat selanjutnya dilakukan uji antiinflamasi terhadap edema kaki tikus putih jantan. Hasilnya menunjukkan penurunan edema sebesar 67,34 \pm 2,91 % (dosis 1,0 mg/kg BB). Hasil ini menunjukkan bahwa dimetil asam ellagat mempunyai aktivitas antiinflamasi yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif (aspirin). Namun hasil ini menunjukkan bahwa dimetil asam ellagat lebih tinggi aktivitasnya dibandingkan fraksi metanol kulit batang Pauh Kijang sebagai induk fraksinya.

D. Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan dapat disimpulkan bahwa ekstrak kental metanol mempunyai aktivitas antiinflamasi berupa persentase penurunan edema 82,34 \pm 6,56 % (dosis 1,0 mg/kg BB) dan data spektrometri menunjukkan bahwa isolat B2.2 merupakan

turunan asam ellagat yaitu dimetil asam ellagat dengan aktivitas antiinflamasi sebesar 67,34±2,91 % (dosis 1,0 mg/kg BB).

E. Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih kepada Herbarium Bogoriense atas determinasi tumbuhan Pauh Kijang (*Irvingia malayana* Oliv. ex. A. Benn).

DAFTAR PUSTAKA

- Bandelier J., Chunhieng T., Olle M., and Montet D. 2002. Original Study of the Biochemical and Oil Composition of the Cambodia Nut *Irvingia malayana*. *J. Agri. Food Chem.*, 50, 1478-1482.
- Kusharyanti, I., Widiyantoro, A., Maryati dan Meiyanto, E. 2008. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kulit Batang Pauh Kijang (*Irvingia malayana* Oliv.ex. A. Benn). *Prosiding Kongres Ilmiah XVI Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia*. Yogyakarta. ISBN: 978-979-95108-6-0
- Nakahara. K., Roy. M. K., Alzoreky. N. S., and Thalang. N. V. 2002. Inventory of Indegenous Plants and Minor Crops in Thailand Based on Bioactivities. *9th JIRCAS International Symposium*, 135-139.
- Ng, K.W., Salhimi, S.M., Majid, A.M.S.A. and Chan, K.L. 2010. Antiangiogenic and Cytotoxicity Studies of Some Medicinal Plants, *Planta Med.*, 76, 935-940
- Pouplin. J. N., and Tran. H. 2007, Antimalarial and Citotoxic Activities of Ethnopharmacologically Selected Medical Plants from South Vietnam. *J. Ethnopharm.*, 109 (2), 417-427.
- Praptiwi dan Chairul, 2008. Pengaruh Pemberian Ekstrak Pauh Kijang (*Irvingia malayana* Oliv. ex. A. Benn) Terhadap Tingkat Penurunan Parasitemia pada Mencit yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*. *Biodiversitas*. 9 (2), 96-98
- Widiyantoro, A., Kusharyanti, I., Destiarti, L., Wardoyo, E.R.P. 2011. Senyawa Antiinflamasi dari Kulit Batang Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack), *Eksakta*, 12 (2), 49-52