

Aktivitas Anti-inflamasi Parem Instant Tradisional dari Bahan Usada Bali pada Mencit Inflamasi yang Diinduksi Karagenan (Anti-Inflammatory Activity of Traditional Instant Parem From Usada Bali on Carrageenan-Induced Inflammatory Mice Model)

PUTU ERA SANDHI KUSUMA YUDA^{1*}, GUSTI AYU PUTU YOSINTA SASMITA¹, ERNA CAHYANINGSIH¹

¹Departemen Farmasi Bahan Alam, Fakultas Farmasi, Universitas Mahasaraswati Denpasar, Denpasar, Bali, 80233, Indonesia

Diterima 1 April 2021, Disetujui 16 Agustus 2022

Abstrak: Maraknya efek samping penggunaan obat anti-inflamasi steroid dan non steroid yang digunakan dalam jangka panjang oleh pasien rematik memerlukan alternatif terapi yang relatif lebih aman. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas parem instan dari Usada Bali yang diberi nama BIO-PAREM sebagai agen anti-inflamasi terhadap mencit inflamasi dengan diinduksi karagenan. Penelitian ini merupakan *randomized pre-test and post-test with control group design* dengan subjek 24 ekor mencit terbagi dalam empat kelompok perlakuan. Kelompok pertama sebagai kontrol negatif diberikan pembawa (aquadest), kelompok dua kontrol positif diberikan gel natrium diklofenak, kelompok tiga (P1) diberikan BIO-PAREM konsentrasi 12,5% dan kelompok 4 (P2) diberikan BIO-PAREM konsentrasi 25%. Seluruh kelompok diinduksi dengan karagenan 1% (b/v), kemudian diberikan perlakuan secara topikal dan kemudian dilakukan pengukuran perubahan volume peradangan kaki mencit menggunakan pletismometer pada jam ke-0, 1, 2, 3, dan 4. Uji *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney* (taraf kepercayaan 95%) digunakan untuk melakukan analisis terhadap perubahan volume peradangan relatif. Dari hasil pengujian skrining fitokimia BIO-PAREM baik pada konsentrasi 12,5% maupun 25% menunjukkan adanya kandungan senyawa tannin, steroid, triterpenoid, flavonoid dan alkaloid. BIO-PAREM pada kedua konsentrasi mampu menghambat inflamasi secara bermakna jika dibandingkan dengan kontrol negatif ($p < 0,05$), namun kedua konsentrasi tersebut menghasilkan aktivitas antiinflamasi yang sebanding ($p > 0,05$).

Kata kunci: Inflamasi, jamu, obat tradisional, parem instan, Usada Bali

Abstract: The increase of adverse reactions from anti-inflammatory drugs that are used in the long term by rheumatic patients requires a relatively safer alternative therapy. This research was aimed to evaluate the effectiveness of Usada Bali's instant parem (BIO-PAREM) as an anti-inflammatory agent against carrageenan-induced inflammatory mice. The method used was randomized pre-test and post-test with control group design using 24 mice which were divided into 4 treatment groups. The negative control group was given a vehicle, the positive control group was given anti-inflammatory gel of diclofenac sodium, group 3 (P1) was given BIO-PAREM with a concentration of 12.5% and group 4 (P2) was given BIO-PAREM with a concentration of 25%. All groups were induced with 1% carrageenan, then the mice's paw edema volume was calculated using a plethysmometer at 0, 1, 2, 3, and 4 hours. The Kruskal Wallis and Mann Whitney test were used to analyse the relative change of inflammation volume. The BIO-PAREM phytochemical screening assay showed the presence of alkaloids, flavonoids, tannins, steroids and triterpenoids. BIO-PAREM showed significant inhibition of mice's paw edema at concentrations of 12.5% and 25% ($p < 0.05$) indicating its potential as a candidate for topical alternative treatment for rheumatism.

Keywords: Balinese Usada, inflammation, instant parem, jamu, traditional medicine

*Penulis korespondensi
e-mail: erasandhi@unmas.ac.id

PENDAHULUAN

RHEUMATOID arthritis (RA) merupakan salah satu masalah autoimun yang melibatkan beberapa persendian secara bilateral. Ini ditandai dengan peradangan tendon (tenosinovitis) yang mengakibatkan kerusakan tulang rawan dan erosi tulang⁽¹⁾. Bukti mayoritas yang berasal dari analisis genetika, analisis jaringan, model, dan studi klinis, menunjukkan etiologi yang dimediasi oleh sistem imun yang terkait dengan disregulasi jaringan stroma yang bersama-sama memicu peradangan kronis dan kerusakan artikular⁽²⁾.

Tujuan utama pengobatan RA adalah untuk mengontrol rasa sakit dan peradangan, mengurangi kerusakan sendi dan kecacatan, serta mempertahankan atau meningkatkan fungsi fisik dan kualitas hidup⁽³⁾. Obat-obatan, yang dianggap bekerja cepat adalah obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) karena penghambatan prostaglandin. Efek samping dari beberapa NSAID pada dosis tinggi termasuk diantaranya adalah tinitus, gangguan pendengaran, dan intoleransi lambung. NSAID bekerja dengan menghambat siklo-oksigenase untuk mencegah sintesis prostaglandin, prostasiklin, dan tromboksan. Mual, gangguan perut, tukak, serta perdarahan gastrointestinal merupakan beberapa kejadian yang dapat terjadi oleh penggunaan obat tersebut⁽⁴⁾. Studi meta-analisis dan beberapa uji klinis terkontrol telah memberikan cukup petunjuk mengenai adanya efek samping NSAID pada komplikasi saluran pencernaan, hati, jantung dan pembuluh darah, paru-paru dan ginjal^(5,6). Oleh sebab itu, diperlukan penelitian untuk mendapatkan obat anti-inflamasi yang dapat digunakan secara topikal dengan efek samping yang relatif lebih aman.

Salah satu alternatif pengobatan dalam peradangan sendi adalah menggunakan bahan herbal yang berasal dari pengobatan tradisional. Beberapa tanaman herbal telah diketahui memiliki khasiat dalam meringankan inflamasi pada persendian dan tulang seperti *Whitania somnifera*, *Boswellia spp.*, *Curcuma spp.*, *Equisetum arvense*, *Sesamum indicum*, *Harpagophytum procumbens*, *Salix spp.*, *Zingiber officinalis*, *Symphytum officinalis*, *Arnica montana*, dan *Panax notoginseng*⁽⁷⁾. Selain itu, hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak herbal yang mengandung tinggi piperin yang diformulasikan secara transdermal menunjukkan aktivitas anti-inflamasi yang bergantung pada dosis melalui penghambatan produksi oksida nitrat dan prostaglandin E2 pada sel makrofag⁽⁸⁾. Hasil penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak kering *Aleurites moluccana* yang diberikan secara topikal

dalam bentuk sediaan semipadat memiliki aktivitas anti-inflamasi melalui mekanisme pengurangan migrasi leukosit dan penurunan kadar sitokin dan kemokin⁽⁹⁾. Hal ini menunjukkan adanya potensi bahan herbal sebagai agen anti-inflamasi topikal. Hal ini juga diperkuat oleh hasil penelitian dimana penggunaan secara topikal dari campuran daun *Lawsonia inermis* L. (Henna) dengan ekstrak air daun *Ricinus communis* L telah terbukti memiliki efek yang signifikan dalam mengurangi nyeri dan inflamasi pada hewan coba⁽¹⁰⁾.

Pengobatan tradisional telah lama digunakan sebagai salah satu alternatif dalam terapi beberapa penyakit. Di Bali khususnya terdapat lontar yang membahas tentang pengobatan tradisional yaitu Usada Bali. Kata "Usada" berasal dari bahasa Sansekerta *ausadhi* dengan makna yaitu tumbuhan yang berkhasiat obat. Usada adalah warisan pengetahuan pengobatan tradisional Bali yang telah ada sejak lama dan diperoleh dari berbagai gabungan sumber, menggunakan tanaman obat lokal Bali serta memadukan pengalaman masyarakat tradisional Bali⁽¹¹⁾. Salah satu bagian dari Usada Bali adalah Lontar Usada Taru Pramana yang berisi penjelasan mengenai berbagai macam tumbuhan yang berkhasiat obat. Dalam lontar tersebut terdapat berbagai bentuk formula tradisional salah satunya adalah dalam bentuk boreh atau parem⁽¹²⁾. Parem telah dikenal sebagai sebuah bentuk obat tradisional berbentuk serbuk atau campuran herbal yang dikombinasikan dengan air atau minyak untuk dibalurkan pada bagian tubuh yang sakit. Pada masyarakat Bali, parem atau boreh ini digunakan secara topikal pada daerah persendian yang mengalami inflamasi akibat rematik.

BIO-PAREM adalah suatu formula boreh/parem yang diambil dari bahan-bahan Usada Bali dengan kandungan rempah-rempah khas Bali seperti jahe (*Zingiber officinale* Rosc.), kencur (*Kaempferia galanga* L.), cengkeh (*Syzygium aromaticum*), kunyit (*Curcuma domestica* Val), bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.), kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), dan pala (*Myristica fragrans* Houtt). BIO-PAREM sangat berpotensi dijadikan sebagai obat herbal terstandar dengan didukung beberapa penelitian yang menyatakan bahan-bahan yang digunakan dalam BIO-PAREM mengandung senyawa metabolit sekunder yang bermanfaat sebagai anti-inflamasi seperti etil-p-metoksisinamat pada kencur, gingerol pada jahe, kurkumin pada kunyit, eugenol yang terkandung pada cengkeh serta asam miristat yang terkandung dalam biji pala⁽¹³⁻¹⁷⁾.

Melihat adanya potensi BIO-PAREM untuk dapat dikembangkan menjadi obat herbal terstandar yang anti-inflamasi dengan khasiat yang dapat dibuktikan

secara ilmiah melalui uji pra-klinik, maka perlu dilakukan pengujian antiinflamasi secara pra-klinik dengan metode *paw edema* pada mencit jantan inflamasi yang diinduksi karagenan.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Beberapa material yang digunakan dalam penelitian ini adalah BIO-PAREM, etanol 70% (Bratachem, Indonesia), HCl pekat (Merck), pereaksi Dragendorf, larutan Pb-asetat, NaOH (Merck), larutan FeCl_3 , Aquadest, larutan kloroform (Merck), larutan H_2SO_4 pekat (Merck), pereaksi Liebermann-Burchard, aquadest, gel natrium diklofenak (VE, GSK), dan karagenan (Sigma, USA).

Alat. Beberapa peralatan pendukung dalam penelitian ini diantaranya adalah timbangan elektrik (Acis), oven (Mettler, KG), pletismometer (Orchid, India), spuit injeksi (Terumo), dan alat-alat gelas.

METODE. Determinasi Tanaman. Tahap pertama ini dilakukan pengumpulan tumbuhan seperti rimpang kunyit, rimpang jahe, rimpang kencur, rimpang bangle, kulit kayumanis, buah pala dan bunga cengkeh, kemudian dilakukan determinasi tanaman untuk memastikan kebenaran identitas tanaman yang digunakan dalam penelitian bertempat di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Eka Karya, Bedugul-Bali.

Pembuatan BIO-PAREM. Rimpang kunyit, rimpang jahe, rimpang kencur, rimpang bangle, biji pala, bunga cengkeh dan kulit kayu manis dibersihkan, kemudian dicuci dan ditiriskan. Bahan-bahan ini kemudian dikeringkan di dalam oven pada suhu 40 °C. Setelah kering bahan-bahan ini selanjutnya disortasi kering untuk memisahkan bahan atau benda asing pada simplisia, kemudian simplisia ini dihancurkan menggunakan blender hingga menjadi serbuk halus (melalui ayakan nomor 20). Semua bahan yang meliputi serbuk kering dari kencur, jahe, cengkeh, pala, kayu manis, kunyit dan bangle dicampur dengan perbandingan yang sama dan kemudian diaduk sampai homogen. Bahan yang telah tercampur disuspensikan dalam air hangat (suhu 60 °C) sampai homogen.

Penapisan Fitokimia. Tahap ini diawali dengan melarutkan 500 mg produk BIO-PAREM kedalam 50 mL pelarut air hangat, kemudian disaring untuk memisahkan ampas sehingga dihasilkan larutan yang akan digunakan pada pengujian skrining fitokimia.

Pengujian keberadaan alkaloid dilakukan dengan menguapkan larutan uji sebanyak 2 mL pada cawan porselen hingga diperoleh residu yang akan direkonstitusi dengan 5 mL larutan HCl 2N. Kemudian didinginkan dan disaring, selanjutnya larutan dibagi menjadi dua. Sampel pertama sebagai larutan blangko,

sampel kedua diberikan 3 tetes *Dragendorf*. Hasil positif alkaloid ditunjukkan jika timbul endapan berwarna jingga kecokelatan⁽¹⁸⁾.

Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan memasukkan masing-masing 1 mL larutan uji ke dalam 3 tabung reaksi dimana sampel pertama berfungsi sebagai blangko, tabung kedua direaksikan dengan larutan Pb asetat (timbang asetat) 10%. Hasil positif flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna kuning⁽¹⁹⁾ sedangkan sampel ketiga direaksikan dengan larutan NaOH 20%, jika terbentuk larutan berwarna kuning maka diduga mengandung flavonoid⁽²⁰⁾.

Pemeriksaan saponin dilakukan dengan menambahkan 5 mL larutan uji dengan 5 mL aquadest dan dikocok selama 30 detik kemudian dibandingkan dengan blangko. Terbentuknya busa setinggi 1-10 cm selama sepuluh menit dan tidak hilang dengan penambahan larutan HCl 2N menandakan adanya saponin⁽¹⁸⁾.

Pemeriksaan tanin dilakukan dengan mereaksikan 2 mL larutan uji dengan beberapa tetes FeCl_3 5%. Terbentuknya warna hijau kehitaman menandakan adanya kandungan tanin⁽²¹⁾.

Pemeriksaan steroid/ triterpenoid dilakukan dengan menguapkan 2 mL larutan uji kemudian direkonstitusi dengan 2 mL kloroform dan pereaksi *Liebermann-Burchard*. Jika pada perbatasan dua pelarut terbentuk warna hijau atau biru menandakan adanya steroid sedangkan terbentuknya warna coklat atau violet mengindikasikan adanya senyawa terpenoid^(22,23).

Pengujian Aktivitas Anti-inflamasi. Prosedur pengujian pada penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana No.1762/UN14.2.2.VII.14/LP/2019. Penelitian ini menggunakan mencit putih jantan yang dalam kondisi sehat, berusia ± 2 bulan, berat berkisar antara 20-30 gram dan diadaptasikan dengan kondisi lingkungan selama tiga hari serta dipuaskan dari makanan selama 12 jam sebelum perlakuan. Hewan coba dibagi dalam empat kelompok (n=6). Kelompok pertama sebagai kontrol negatif diberikan pembawa berupa aquadest, kelompok kontrol positif diberikan gel natrium diklofenak 1% (VE). Penggunaan gel natrium diklofenak sebagai kontrol positif didasarkan pada pertimbangan bahwa saat penelitian ini dilakukan, di pasaran belum terdapat sediaan parem instant yang memiliki bukti ilmiah sebagai anti-inflamasi. Kelompok perlakuan diberikan BIO-PAREM konsentrasi 12,5% dan 25%. Seluruh mencit diinduksi inflamasi dengan cara menginjeksikan sebanyak 50 μL (0,05 mL) karagenan dalam larutan saline (1% b/v) pada kaki kanan bagian belakang.

Seluruh perlakuan diberikan dengan cara mengoleskan sediaan sebanyak 0,02 g secara topikal pada bagian telapak kaki yang diinduksi karagenan dengan menggunakan *cotton bud*. Perlakuan diulang tiap 1 jam dalam 4 jam dan dilakukan setelah pengukuran volume peradangan. Volume peradangan (mL) dari telapak kaki mencit yang diinduksi inflamasi diukur dengan *plethysmometer* ^(24,25). Untuk meminimalkan pengaruh perbedaan ukuran kaki mencit awal terhadap nilai volume peradangan setelah perlakuan maka volume peradangan dihitung dalam bentuk volume peradangan relatif (V_n/V_0) saat jam ke-n dibandingkan dengan volume awal dimana, V_0 : volume telapak kaki mencit awal (jam ke-0) setelah diinduksi karagena dan V_n : Volume telapak kaki mencit pada jam ke-n.

Analisis Data. Uji *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney* dengan taraf kepercayaan 95% digunakan untuk menganalisis data perubahan volume peradangan kaki mencit menggunakan *software SPSS for Windows Ver. 22*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Autentifikasi Tanaman. Determinasi menunjukkan bahwa jenis tanaman yang digunakan untuk pembuatan produk BIO-PAREM meliputi *Myristica fragrans* Houtt, *Zingiber montanum* (J. Koenig) Link ex A. Dietr, *Cinnamomum burmannii* (Nees & T. Nees) Blume (No.Spesimen: B-1508/IPH.7/AP/XII/2018.1-3), *Curcuma longa* L, *Kaemferia galanga* L., *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry, dan *Zingiber officinale* Roscoe (No.Spesimen: B.1783/IPH.7/AP/XII/2018.1-6).

Hasil Uji Organoleptis. BIO-PAREM dibuat dengan cara mencampurkan serbuk kering simplisia ke dalam air hangat sebelum digunakan. Hasil uji organoleptis BIO-PAREM yaitu kedua sediaan BIO-PAREM baik dengan konsentrasi 12,5% dan 25% memiliki bentuk setengah padat dengan tekstur agak

Tabel 1. Hasil pengujian organoleptis BIO-PAREM.

Uji Organoleptis	Hasil Pengujian	
	BIO-PAREM 12.5%	BIO-PAREM 25%
Bentuk	Setengah Padat	Setengah Padat
Warna	Coklat kekuningan	Coklat kekuningan
Bau	Khas rempah-rempah	Khas rempah-rempah

kasar, warna coklat kekuningan dan bau khas rempah-rempah seperti ditunjukkan pada Tabel 1. Sediaan konsentrasi 25% memiliki aroma rempah-rempah yang lebih kuat dibandingkan konsentrasi 12,5%.

Kandungan Fitokimia. Tahapan selanjutnya yaitu melakukan analisis kualitatif keberadaan senyawa metabolit sekunder pada BIO-PAREM

melalui penapisan fitokimia. Hasil skrining fitokimia BIO-PAREM menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, tannin, steroid dan triterpenoid seperti ditunjukkan pada Tabel 2. Namun pada BIO-PAREM tidak ditemukan adanya kandungan saponin pada penelitian ini.

Tabel 2. Kandungan fitokimia BIO-PAREM.

Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil Pengamatan
Alkaloid	Dragendroff	+
Flavonoid	Pb-asetat 10%	+
	NaOH 20%	+
Saponin	Aquadest + HCl 2N	-
	FeCl ₃ 5%	+
Tanin	Liebermann	+
Steroid	Burchard	+
	Liebermann Burchard	+

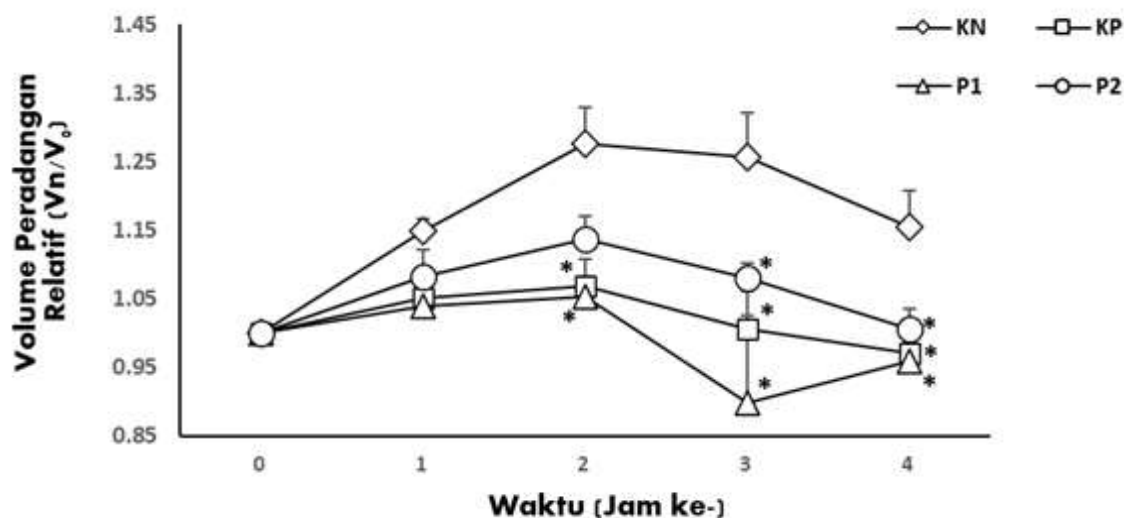
Hasil Uji Aktivitas Anti-inflamasi. Data pengujian aktivitas anti-inflamasi dalam penelitian ini ditampilkan dalam bentuk volume peradangan kaki relatif. Volume peradangan relatif diukur dengan cara membandingkan volume peradangan dari masing-masing kelompok pada saat pengukuran dengan volume peradangan awal masing-masing hewan coba (V_n/V_0) selama 4 jam. Pengamatan dilakukan sampai jam ke-4 dengan mempertimbangkan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa induksi inflamasi dengan karagenan mencapai puncak maksimal pada jam ke-4 ⁽²⁶⁾. Adapun volume peradangan relatif tiap kelompok yaitu untuk kelompok kontrol negatif dari jam ke-1 hingga jam ke-4 volume peradangan relatifnya adalah $1,14 \pm 0,01$; $1,27 \pm 0,05$; $1,25 \pm 0,06$; dan $1,15 \pm 0,05$. Untuk kelompok kontrol positif dari jam ke-1 hingga jam ke-4 volume peradangan relatifnya adalah $1,05 \pm 0,01$; $1,06 \pm 0,03$; $1,00 \pm 0,05$; dan $0,97 \pm 0,01$. Untuk kelompok perlakuan 1 (P1) pada jam ke-1, 2, 3 dan 4 volume peradangan relatifnya berturut-turut adalah $1,03 \pm 0,04$; $1,05 \pm 0,02$; $0,89 \pm 0,12$; dan $0,95 \pm 0,03$. Untuk kelompok perlakuan 2 (P2) pada jam ke-1, 2, 3 dan 4 volume peradangan relatifnya berturut-turut adalah $1,08 \pm 0,03$; $1,13 \pm 0,03$; $1,08 \pm 0,02$; dan $1,00 \pm 0,031$. Hasil pengujian uji *Kruskal-Wallis* menyatakan adanya perbedaan yang signifikan terhadap volume peradangan kaki mencit pada jam ke-2, 3 dan 4 ($p < 0,05$).

Hasil uji *Mann-Whitney* memperlihatkan antara kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif pada jam ke-2, 3, dan 4 memiliki perbedaan volume peradangan relatif yang signifikan dengan nilai p berturut-turut 0,029; 0,020; dan 0,003, artinya pemberian kontrol positif gel natrium diklofenak secara topikal menunjukkan reaksi penghambatan

inflamasi mulai jam ke-2 dan bertahan sampai jam ke-4. Jika dibandingkan antara kontrol negatif dengan BIO-PAREM 12,5% menunjukkan adanya perbedaan volume peradangan relatif yang signifikan pada jam ke-2, 3, dan 4 dengan nilai p yaitu 0,005; 0,005; dan 0,010. Sama halnya dengan kontrol positif, pemberian perlakuan BIO-PAREM dengan konsentrasi 12,5% (P1) sudah menunjukkan adanya aktivitas penghambatan peradangan pada jam ke-2 dan bertahan sampai jam ke-4, sedangkan hasil uji *Mann Whitney* antara kontrol negatif dengan BIO-PAREM 25% (P2) pada jam ke-2 tidak menunjukkan adanya perbedaan volume peradangan relatif yang signifikan ($p=0,053$), namun pada jam ke-3 dan 4 antara kontrol negatif dengan P2 terdapat perbedaan volume peradangan relatif yang signifikan dengan nilai $p=0,016$ pada jam ke-3 dan $p=0,024$ pada jam ke-4. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian BIO-PAREM dengan konsentrasi 25% (P2) mampu menghambat reaksi inflamasi pada jam ke-3 sampai dengan jam ke-4. Antara kelompok P1 dengan P2 pada jam ke-3 dan 4 tidak terdapat perbedaan volume peradangan relatif yang signifikan dengan nilai p berturut-turut 0,196 dan 0,294. Dari hasil tersebut baik pemberian BIO-PAREM dengan konsentrasi 12,5% (P1) dan konsentrasi 25% (P2) mampu menghambat reaksi inflamasi secara signifikan pada jam ke-3 dan 4 dengan kekuatan yang sebanding atau tidak tergantung pada konsentrasi, sehingga formula yang digunakan dalam BIO-PAREM pada kedua konsentrasi dapat disimpulkan memiliki efek anti-inflamasi pada kaki mencit inflamasi yang diinduksi karagenan. Hasil pengujian aktivitas anti-inflamasi beserta gambaran hasil statistiknya dapat dilihat pada Gambar 1.

BIO-PAREM terbuat dari rempah-rempah yang secara tradisional digunakan untuk parem oleh masyarakat Indonesia khususnya oleh masyarakat Bali yaitu berupa campuran dari bahan kencur, kunyit, jahe, cengkeh, kayu manis, bangle dan pala. Parem ini secara tradisional digunakan untuk menghangatkan badan atau meringankan nyeri termasuk pada kondisi peradangan misalnya pada kaki, tangan maupun leher. Untuk itu, perlu dilakukan upaya pembuktian ilmiah terhadap khasiat dari parem ini sehingga dapat dikembangkan menjadi formula jamu saintifik yang bermanfaat bagi masyarakat. Bahan-bahan tersebut dibuat dalam bentuk parem instant dalam bentuk yang dikeringkan sehingga lebih praktis ketika digunakan mengingat penyiapan bahan dan pembuatan parem secara tradisional memerlukan waktu dan tenaga yang cukup banyak.

Setelah dilakukan identifikasi kandungan fitokimia dapat diketahui bahwa BIO-PAREM mengandung beberapa golongan senyawa bahan alam yaitu alkaloid, flavonoid, tannin, triterpenoid dan steroid. Adanya efek anti-inflamasi dari BIO-PAREM dapat disebabkan karena adanya beberapa kandungan dari BIO-PAREM yang memiliki mekanisme menghambat proses peradangan. Menurut D'Mello dkk.⁽²⁷⁾ hasil pengamatan pada flavonoid kelas flavon, flavonol, dan isoflavon mengarah pada adanya aktivitas penghambatan COX-2 (enzim siklooksigenase 2) selektif yang berperan dalam mediator peradangan, sehingga dapat memberikan aktivitas anti-inflamasi yang baik dan mengurangi efek samping gastrointestinal. Selain itu proses peradangan atau inflamasi dapat juga dipicu oleh adanya radikal bebas seperti misalnya *Reactive Oxygen Species*



Gambar 1. Grafik perubahan volume peradangan relatif (V_n/V_o). Data Ditampilkan dalam bentuk Mean \pm SEM ($n=6$), Keterangan: KN = Kontrol Negatif yang diberikan aquadest, KP: Kontrol Positif yang diberikan Gel Natrium Diklofenak, P1: BIO-PAREM konsentrasi 12.5%, P2: BIO-PAREM konsentrasi 25%, * : $P<0.05$ vs KN.

(ROS), dimana radikal bebas tersebut dapat distabilkan oleh senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Flavonoid memiliki efek antioksidan, sehingga flavonoid dapat juga berkontribusi dalam penghambatan reaksi inflamasi⁽²⁸⁾. Senyawa polifenol, seperti flavonoid, tannin, dan asam fenolik juga telah dilaporkan berperan dalam penghambatan proses inflamasi melalui peredaman radikal bebas yang terlibat dalam kaskade reaksi inflamasi⁽²⁹⁾. Senyawa polifenol mengatur imunitas dengan mempengaruhi regulasi sistem imun termasuk mengendalikan terbentuknya sitokin proinflamasi baik di tingkat protein maupun genetik serta menonaktifkan NF- κ B yang merupakan faktor transkripsi mediator inflamasi termasuk memodulasi jalur protein yang diaktifkan mitogen Kinase (MAPk) dan asam arakidonat. Selain itu beberapa enzim yang terlibat dalam pembentukan mediator peradangan seperti lipoksigenase (LOX), fosfolipase A2 (PLA2), dan siklooksigenase (COX) juga dapat dihambat oleh senyawa polifenol yang berujung pada terbatasnya produksi prostaglandin (PG) dan leukotrien (LTs) sehingga memberikan efek antagonisme terhadap reaksi peradangan⁽³⁰⁾. Hal ini memperkuat adanya kemungkinan bahwa efek antiinflamasi yang diberikan pada BIO-PAREM dapat disebabkan oleh adanya kandungan polifenol.

Terdapat banyak senyawa dari bahan alam yang telah terbukti memiliki aktivitas anti-inflamasi dan telah diisolasi selama bertahun-tahun. Salah satu kajian mengenai senyawa alkaloid yang bersumber dari bahan alam dengan efek anti-inflamasi dimana sebagian besar diuji secara *in vivo* dengan metode paw edema yang diinduksi karagenan menunjukkan bahwa dari 49 alkaloid yang dievaluasi, 40 jenis senyawa alkaloid menunjukkan aktivitas anti-inflamasi dan jenis yang paling banyak dipelajari sebagai anti-inflamasi adalah alkaloid isokuinolin⁽³¹⁾. Selain polifenol, hasil penelitian juga memberikan indikasi bahwa senyawa alkaloid dapat menekan proliferasi limfosit, menghambat sitotoksitas sel *natural killer*, mengatur produksi histamin dari sel *mast*, serta mempengaruhi pelepasan interleukin-1 (IL-1) monosit dan aksi PAF (*Platelet Activating Factor*) pada platelet sehingga menghambat reaksi inflamasi⁽³²⁾.

Mekanisme aksi terpenoid juga telah menunjukkan adanya efek terapeutik pada peradangan dengan menghambat pembentukan prostaglandin yang memegang peran penting dalam proses inflamasi⁽³³⁾. Tumbuhan merupakan salah satu sumber senyawa terpenoid. Senyawa terpenoid tersebut telah banyak ditemukan dan terbukti memiliki efek antiinflamasi^(34,35). Beberapa senyawa terpenoid diketahui secara signifikan dapat menghambat perkembangan inflamasi sendi kronis dimana senyawa

ini dapat mempengaruhi beragam mekanisme yang relevan dengan peradangan yang timbul sebagai respons terhadap berbagai faktor etiologi^(36,37). Kerusakan jaringan yang terjadi saat proses inflamasi yang disebabkan karena pengkerutan sel limfosit dapat dihambat oleh steroid glikosida dari ekstrak tanaman *Trigonella foenum graecum*⁽³⁸⁾.

Berdasarkan hasil penelitian ini BIO-PAREM telah teruji khasiatnya sebagai anti-inflamasi secara pra-klinis pada mencit. Kajian lebih lanjut tetap diperlukan untuk mengetahui senyawa fitokimia yang bertanggungjawab terhadap aktivitas antiinflamasi dari BIO-PAREM. Untuk dapat dikembangkan menjadi Obat Herbal Terstandar BIO-PAREM perlu dilakukan pengujian lebih lanjut yang meliputi uji keamanan/toksisitas dan standardisasi bahan baku, sehingga BIO-PAREM dapat menjadi salah satu kandidat obat alternatif sebagai anti-inflamasi.

SIMPULAN

Berdasarkan skrining fitokimia dan uji aktivitas anti-inflamasi dapat disimpulkan bahwa BIO-PAREM mengandung beberapa senyawa fitokimia yaitu tannin, terpenoid, steroid, alkaloid, dan flavonoid. BIO-PAREM memiliki aktivitas yang signifikan dalam menekan peradangan kaki mencit inflamasi yang diinduksi karagenan secara topikal baik pada konsentrasi 12,5% maupun 25%, dan antara kedua konsentrasi tersebut memiliki aktivitas anti-inflamasi yang hampir sebanding atau tidak berbeda secara statistik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Mahasaraswati Denpasar yang telah menyediakan fasilitas dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lin YJ, Anzaghe M, Schülke S. Update on the Pathomechanism, Diagnosis, and Treatment Options for Rheumatoid Arthritis. *Cells*. 2020;9(4):880.
2. Firestein GS, McInnes IB. Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Immunity*. 2017;46(2):183-196.
3. Ferro F, Elefante E, Luciano N, Talarico R, Todoerti M. One year in review 2017: novelties in the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2017;35(5):721-34.
4. Bullock J, Rizvi SA, Saleh AM, Ahmed SS, Do DP, Ansari RA, Ahmed J. Rheumatoid arthritis: a brief overview of the treatment. *Medical Principles and Practice*. 2018;27(6):501-7.
5. Bindu S, Mazumder S, Bandyopadhyay U. Non-

- steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochemical Pharmacology*. 2020;180(114147):1-21.
6. Baranowski DC, Buchanan B, Dwyer HC, Gabriele JP, Kelly S, Araujo JA. Penetration and efficacy of transdermal NSAIDs in a model of acute joint inflammation. *Journal of pain research*. 2018;11:2809-19.
 7. Dragos D, Gilca M, Gaman L, et al. Phytomedicine in joint disorders. *Nutrients*. 2017;9(70):1-18.
 8. Asasutjarit R, Sookdee P, Veeranondha S, Fuongfuchat A, Itharat A. Application of film-forming solution as a transdermal delivery system of piperine-rich herbal mixture extract for anti-inflammation. *Heliyon*. 2020;6(6):e04139.
 9. Mendes Hoepers S, Tolentino de Souza HG, Meira Quintão NL, Roberto Santin J, Cechinel Filho V, Silva RM, Garcia Couto A, Simão da Silva KA. Topical anti-inflammatory activity of semisolid containing standardized *Aleurites moluccana* L. Willd (Euphorbiaceae) leaves extract. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015;173:251-5.
 10. Ziaei A, Sahranavard S, Gharagozlou MJ, Faizi M. Preliminary investigation of the effects of topical mixture of *Lawsonia inermis* L. and *Ricinus communis* L. leaves extract in treatment of osteoarthritis using MIA model in rats. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;24(12):1-20.
 11. Nala IGN. Usada di Bali dalam Usada Majalah Kesehatan. Denpasar: Paramita; 2007.
 12. Sari M. Usada Bali seri menguak dahsyatnya khasiat ramuan obat herbal (Taru Pramanan). Denpasar: Paramita; 2015.
 13. Sulaiman MR, Zakaria ZA, Daud IA, Ng FN, Ng YC, Hidayat MT. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the aqueous extract of *Kaempferia galanga* leaves in animal models. *Journal of Natural Medicines*. 2008;62(2):221-7.
 14. Raji Y, Udoh US, Oluwadara OO, Akinsomisoye OS, Awobajo O, Adeshoga K. Anti-inflammatory and analgesic properties of the rhizome extract *Zingiber officinale*. *African Journal of Biomedical Research*. 2002;5:121-4.
 15. Said, A. Khasiat dan manfaat kunyit. Jakarta: PT. Sinar Wadjar Lestari; 2007.
 16. Murakami Y, Shoji M, Hanazawa S, Tanaka S, Fujisawa S. Preventive effect of bis-eugenol, a eugenol ortho dimer, on lipopoly saccharide-stimulated nuclear factor kappa B activation and inflammatory cytokine expression in macrophages. *Biochemical pharmacology*. 2003;66(6):1061-6.
 17. Hartanto ES dan Silitonga FS. Ekstraksi asam miristat asal biji pala (*Myristica fragrans* Houtt) dan limbah industri olahannya. *Indonesian Journal of Industrial Research*. 2018;35(1):38-45.
 18. Marlina SD, Suryanti V, Suyono. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swatz) dalam ekstrak etanol. *Jurnal Biofarmasi*. 2005;3(1):26-31.
 19. Raphael E. Phytochemical constituents of some leaves extract of *Aloe vera* and *Azadirachta indica* plant species. *Journal of Environmental Science and Toxicology*. 2012;1(2): 14-7.
 20. Ugochukwu SC, Arukwe UI, Onuoha I. Preliminary phytochemical screening of different solvent extract of stem bark and roots of *Denntia tripetala* G. Baker. *Asian Journal of Plant Science & Research*, 3. 2013;3(3):10-3.
 21. Nirwana AP, Astirin OP, Widiyani T. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun benalu kersen (*Dendrophloe pentandra* L. Miq.). *El-Vivo*. 2015; 3(2): 9-15.
 22. Jones WP, Kinghorn AD. Extraction of plant secondary metabolites. In: Sarker, S. D., Latif, Z. and Gray, A. I., eds. *Natural products isolation*. 2nd Ed. New Jersey: Humana Press; 2006.P.341-2.
 23. Evans CW. *Pharmacognosy trease and evans*, 16th edition. Saunders Elsevier, London. UK; 2009.
 24. Coura CO, Souza RB, Rodrigues JA, et al. Mechanisms involved in the anti-inflammatory action of a polysulfated fraction from *Gracilaria cornea* in rats. *PLoS One*. 2015;10(3):e0119319.
 25. Lingadurai S, Nath LK, Kar PK, Besra SE, Joseph RV. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of methanolic extract of the leaves of *Fraxinus floribunda* Wallich. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 2007;4(4):411-6.
 26. Amdekar S, Roy P, Singh V, Kumar A, Singh R, Sharma P. Anti-inflammatory activity of *Lactobacillus* on carrageenan-induced paw edema in male wistar rats. *International journal of inflammation*. 2012;2012:752015.
 27. D'Mello P, Gadhwal M, Joshi U. Modeling of COX-2 inhibitory activity of flavonoids. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2011;3:33-40.
 28. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2001;74(4):418-25.
 29. Hossain H, Al-Mansur A, Akter S, SaraU, Ahmed MR, Jahangir AA. Evaluation of anti-inflammatory activity and total tannin content from the leaves of *Bacopa monnieri* (Linn.). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2014;5(4):1246-52.
 30. Yahfoufi N, Alsadi N, Jambi M, Matar C. The Immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols. *Nutrients*. 2018;10(11):1618.
 31. Souto AL, Tavares JF, da Silva MS, Diniz Mde F, de Athayde-Filho PF, Barbosa Filho JM. Anti-inflammatory activity of alkaloids: an update from 2000 to 2010. *Molecules*. 2011;16(10):8515-34.
 32. Barbosa-Filho JM, Piuvezam MR, Moura MD, Silva MS, Lima KVB, da-Cunha EVL, et al. Anti-inflammatory activity of alkaloids: A twenty-century review. *RRevista Brasileira de Farmacognosia*.

- 2006;16(1):109-39.
33. Prakash V. Terpenoids as source of anti-inflammatory compounds. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2017;10(3):68-76.
 34. Fristiohady A, Wahyuni W, Malik F. In vitro anti-inflammatory activity of *Etlingera elatior* (jack) RM Smith by RBC membrane stabilization method. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2020;18(2):150-7.
 35. Sahlan M, Devina A, Pratami DK, Situmorang H, Farida S, Munim A, Kusumoputro B, Yohda M, Faried A, Gozan M, Ledyawati M. Anti-inflammatory activity of *Tetragonula species* from Indonesia. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2019;26(7):1531-8.
 36. Farida S, Pratami DK, Sahlan M, Laksmiawati DR, Rohmatin E, Situmorang H. In-vitro antioxidant, in-vivo anti-inflammatory, and acute toxicity study of Indonesian propolis capsule from *Tetragonula sapiens*. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2022;29(4):2489-500.
 37. Ge J, Liu Z, Zhong Z, Wang L, Zhuo X, Li J, Jiang X, Ye XY, Xie T, Bai R. Natural terpenoids with anti-inflammatory activities: potential leads for anti-inflammatory drug discovery. *Bioorganic Chemistry*. 2022;105817:1-24.
 38. Ondeykal JG, Herath KB, Jayasuriya H, Polishook JD, Bills GF, Dombrowski AW, et al. Discovery of structurally diverse natural product antagonists of chemokine receptor CXCR3. *Molecular diversity*. 2005;9: 123-9.