

Uji Aktivitas Analgesik dan Anti-Inflamasi Sediaan Infusa dan Dekokta Akar *Eurycoma longifolia* pada Mencit

(Analgesic and Anti-Inflammatory Activities of Infusion and Decoction of *Eurycoma longifolia* root in Mice)

WINA SUSANA, INDRIYANI PERMATASARI, JESSY FLORENSIA, MONITA NATALIA SIREGAR, PHEBE HENDRA*

Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta

Diterima 10 Januari 2018, Disetujui 28 September 2018

Abstrak: *Eurycoma longifolia* telah dikenal sebagai salah satu tanaman obat tradisional di Indonesia. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas analgesik dan anti-inflamasi sediaan infusa dan dekokta akar *Eurycoma longifolia* pada mencit. Efek analgesik diuji dengan menggunakan rangsang kimia (uji geliat) yang menginduksi nyeri perifer pada mencit. Mencit dibagi dalam 8 kelompok. Kelompok I merupakan kontrol negatif, sedangkan kelompok II merupakan kontrol positif yang diberikan asetosal. Kelompok III-V diberikan infusa akar *Eurycoma longifolia* dosis 0,83; 1,67; 3,33 g/kgBB. Kelompok VI-VIII diberikan dekokta akar *Eurycoma longifolia* dengan dosis yang sama. Lima menit kemudian, semua hewan uji diberikan asam asetat. Jumlah geliat dihitung selama 1 jam. Aktivitas antiinflamasi ditentukan dengan menginduksi edema pada mencit menggunakan karagenin. Pembagian kelompok perlakuan sama seperti uji analgesik, namun diklofenak digunakan sebagai kontrol positif. Tebal udema diukur selama 6 jam setelah injeksi karagenin. Pada uji analgesik, baik infusa dan dekokta akar *Eurycoma longifolia* mampu memberikan penurunan jumlah geliat secara signifikan pada mencit yang diinduksi asam asetat ($p < 0,05$). Penurunan tebal udema secara signifikan ($p < 0,05$) juga terlihat pada semua peringkat dosis baik infusa dan dekokta akar *Eurycoma longifolia*. Hasil penelitian menunjukkan akar *Eurycoma longifolia* mempunyai aktivitas analgesik dan antiinflamasi pada mencit.

Kata kunci: *Eurycoma longifolia*, dekokta, infusa, analgesik, anti-inflamasi.

Abstract: *Eurycoma longifolia* is one of the most well-known herbal medicine in Indonesia. This study was conducted to evaluate the analgesic and anti-inflammatory activities of infusion and decoction of *Eurycoma longifolia* root in mice. The analgesic effect was assessed using chemical stimuli (wrihting test) to induce peripheral pain in mice. Mice were divided into 8 groups. Group I as a negative control, while group II as positive control that was given acetosal. Groups III-V were given infusion of *Eurycoma longifolia* root with the following doses 0.83; 1.67; 3.33 g/kgBW respectively. Groups VI-VIII were given decoction of *Eurycoma longifolia* root with the same doses as the previous groups. After 5 min of treatment, all animals were administered with acetic acid. The total number of writhes was recorded for 1 h. The anti-inflammatory activity was determined using carrageenan-induced paw edema in mice. The procedure mentioned above was applied to a similar set of animals. However, diclofenac was administered in place of acetosal. The paw edema were measured using a digital caliper for 6 hours afterwards after carrageenan injection. In analgesic test, infusion and decoction of *Eurycoma longifolia* root significantly decreased the number of writhing in acetic acid-induced mice ($p < 0.05$). There were a significant ($p < 0.05$) reduction in paw edema at all doses of infusion and decoction of *Eurycoma longifolia* root. This study exhibits that infusion and decoction of *Eurycoma longifolia* root possesses analgesic and anti-inflammatory activities in mice.

Keywords: *Eurycoma longifolia*, decoction, infusion, analgesic, anti-inflammatory.

* Penulis korespondensi, Hp. 081904256888
e-mail: phebe_hendra@usd.ac.id

PENDAHULUAN

NYERI merupakan perasaan sensoris dan emosional yang tidak nyaman dan berkaitan dengan adanya kerusakan jaringan⁽¹⁾, sedangkan inflamasi merupakan respon protektif terhadap kerusakan jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, agen kimia berbahaya, atau agen mikrobiologi⁽²⁾. Saat inflamasi berlangsung, terjadi proses penghancuran jaringan yang melibatkan produk-produk darah seperti protein plasma, cairan, dan leukosit ke dalam jaringan yang terganggu⁽³⁾.

Pemanfaatan obat tradisional sebagai pengobatan merupakan salah satu upaya pemanfaatan dan optimalisasi dari keanekaragaman hayati yang dimiliki Indonesia⁽⁴⁾. Dalam menunjang situasi tersebut peran obat bahan alam Indonesia berpeluang untuk dipakai dalam pencegahan maupun pengobatan berbagai penyakit. Salah satu tanaman yang memiliki potensi untuk digunakan sebagai pilihan pengobatan nyeri dan inflamasi, yaitu *Eurycoma longifolia* Jack. (*E. longifolia*) yang dikenal dengan nama pasak bumi di Indonesia. Varghese dkk. melaporkan bahwa ekstrak hidroalkohol akar *E. longifolia* mempunyai aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi secara *in vitro*⁽⁵⁾. Pada uji *in vivo* ekstrak metanol akar *E. longifolia* dilaporkan mempunyai aktivitas analgesik dan antiinflamasi⁽⁶⁾.

Kandungan bioaktif yang paling banyak terkandung di dalam akar *E. longifolia*, yaitu quassinoid⁽⁷⁾. Adanya kandungan kuasinoid yang terdiri dari *eurycomalactone*, *14,15 β -dihydroklaieanone*, dan *13,21-dehydroeurycomanone* pada akar *E. longifolia* dapat digunakan sebagai penghambat dalam jalur aktivasi NF- κ B⁽⁸⁾. Eurycomanone sebagai salah satu komponen quassinoid yang dominan dari akar *E. longifolia*⁽⁸⁾ terlibat sebagai regulator jalur sinyal dalam proliferasi, kematian sel, dan inflamasi dengan mencegah induksi dari NF- κ B dan MAPK oleh TNF α ⁽⁹⁾. Aktivitas NF- κ B dan sinyal dari TNF- α juga berperan penting dalam regulasi faktor-faktor lain yang berkontribusi dalam respon imun, nyeri, dan inflamasi⁽¹⁰⁾, sehingga kerap kali obat anti-inflamasi didesain dengan mekanisme penghambatan aktivitas NF- κ B⁽¹¹⁾.

Pada penelitian digunakan metode penyarian infusa dan dekokta dari akar *E. longifolia*. Pemilihan metode penyarian infusa dan dekokta karena kedua metode merupakan salah satu cara sederhana yang mirip dengan pembuatan sediaan herbal berupa perebusan oleh masyarakat. Selain itu, diharapkan senyawa quassinoid yang merupakan glikosida yang larut air dapat tersari secara optimal baik dalam bentuk sediaan infusa maupun dekokta⁽¹²⁾. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas

analgesik dan anti-inflamasi baik dari infusa maupun dekokta akar *E. longifolia* pada mencit.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Akar *E. longifolia* yang diperoleh dari CV Merapi Farma Yogyakarta, mencit jantan dan betina galur Swiss umur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 g yang diperoleh dari Laboratorium Imono Universitas Sanata Dharma, diklofenak (Norvatis Ind), karagenin (Sigma Chemical Co), asetosal (Merck), asam asetat glasial (Merck), CMC-Na (Dai-Ichi Seiyaku Co.,Ltd), akuades.

Alat. Ayakan nomor mesh 40 dan 50, alat-alat gelas (gelas ukur, *beaker glass*, labu ukur, batang pengaduk, dan pipet tetes), timbangan analitik (Mettler Toledo[®]), panci enamel, penangas air, kain flanel, termometer, *stopwatch*, *sputit*, *needle*, kotak kaca tempat pengamatan geliat dan jangka sorong Digital Caliper (Wipro[®]).

METODE. Pembuatan Infusan dan Dekokta *E. longifolia*. Akar *E. longifolia* yang telah diserbuk, selanjutnya diayak dengan menggunakan ayakan nomor 40 dan 50. Serbuk kering akar *E. longifolia* ditimbang 5 gram dan dimasukkan ke dalam akuades 50 mL, selanjutnya dipanasi pada suhu 90 °C selama 15 menit (untuk infusa) dan 30 menit (untuk dekokta). Perhitungan waktu 15 dan 30 menit dimulai ketika suhu campuran mencapai suhu 90 °C. Campuran diperas menggunakan kain flanel kemudian ditambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume sebanyak 50 mL⁽¹³⁾.

Pengujian Efek Analgesik. Percobaan untuk menentukan aktivitas analgesik akar *E. longifolia* dilakukan dengan metode rangsang kimia yang diinduksi dengan asam asetat^(14,15). Empat puluh ekor mencit betina dibagi secara acak menjadi 8 kelompok. Kelompok I merupakan kontrol negatif akuades 25 g/kgBB; Kelompok II merupakan kontrol positif asetosal 91 mg/kgBB; Kelompok III-V merupakan kelompok perlakuan infusa akar *E. longifolia* dengan 3 peringkat dosis berturut-turut 0,83; 1,67; 3,33 g/kgBB; Kelompok VI-VIII merupakan kelompok perlakuan dekokta akar *E. longifolia* dengan 3 peringkat dosis berturut-turut 0,83; 1,67; 3,33 g/kgBB.

Pemberian asam asetat 1% secara intra peritoneal dilakukan setelah 5 menit pemberian larutan peroral pada semua kelompok perlakuan. Respon jumlah geliat akibat induksi asam asetat diamati setiap 5 menit selama 1 jam^(15,16).

Pengujian Efek Anti-inflamasi. Mencit jantan dibagi acak menjadi 8 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri 5 mencit. Induksi udema dilakukan dengan pemberian karagenin 1% secara

subplantar.

Kelompok I merupakan kontrol negatif akuades 25 g/kgBB; Kelompok II merupakan kontrol positif diklofenak 4,48 mg/kgBB. Kelompok III-V merupakan kelompok perlakuan infusa akar *E. longifolia* dengan 3 peringkat dosis berturut-turut 0,83; 1,67; 3,33 g/kgBB; Kelompok VI-VIII merupakan kelompok perlakuan dekokta akar *E. longifolia* dengan 3 peringkat dosis berturut-turut 0,83; 1,67; 3,33 g/kgBB.

Pada semua kelompok perlakuan diberikan karagenin 1% secara subplantar pada telapak kaki kiri mencit setelah 15 menit pemberian larutan peroral. Pengukuran tebal edema telapak kaki belakang mencit dimulai dari menit ke-0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330, dan 360 setelah terinduksi karagenin 1% dengan menggunakan jangka sorong⁽¹⁷⁻¹⁹⁾.

Semua prosedur eksperimental menggunakan hewan uji telah disetujui oleh Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta dengan nomor referensi KE/FK/841/EC/2016.

Analisis Data. Data yang diperoleh dari masing-masing pengujian disajikan dalam bentuk rerata dan standar eror. Pada pengujian analgesik dihitung dan dihitung persentase proteksi geliat dengan persamaan: (rerata kontrol negatif- rerata perlakuan)/rerata kontrol negatif X 100)⁽¹⁴⁾. Pada pengujian anti-inflamasi tebal edema selama 360 menit dinyatakan dalam luas area dibawah kurva (AUC-Area Under Curve), selanjutnya dihitung persentase penghambatan inflamasi⁽¹⁹⁾. Selanjutnya dilakukan analisa statistik dengan dengan taraf kepercayaan 95% untuk melihat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian Aktivitas Analgesik IAEL dan DAEL.

Aktivitas analgesik IAEL dan DAEL pada mencit terinduksi asam asetat tersaji pada Tabel 1.

Pada kontrol positif asetosal dan semua kelompok perlakuan dosis (0,83; 1,67; dan 3,33 g/kg BB) baik IAEL maupun DAEL memberikan jumlah kumulatif geliat yang lebih rendah secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol negatif akuades. Ini berarti bahwa pada kontrol positif asetosal dan semua kelompok perlakuan dosis dengan bentuk sediaan infusa maupun dekokta *E. longifolia* mampu memberikan proteksi nyeri pada mencit terinduksi asam asetat.

Perlakuan IAEL 0,83; 1,67; dan 3,33 g/kg BB memberikan jumlah kumulatif geliat yang lebih besar secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol positif asetosal. Hal ini menunjukkan walaupun perlakuan IAEL 0,83; 1,67; dan 3,33 g/kg BB mampu memberikan proteksi nyeri pada mencit, namun kemampuan proteksi nyeri masih lebih rendah (persen proteksi berturut-turut 22,4; 28,0; 37,0%) dibandingkan kontrol asetosal (persen proteksi 72,2%). Hal yang serupa juga terlihat pada DAEL 0,83 dan 1,67 g/kgBB yang memberikan jumlah kumulatif geliat yang lebih besar secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol positif asetosal, namun jumlah kumulatif geliat DAEL 3,33 g/kgBB lebih rendah secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan kontrol positif asetosal. DAEL 0,83 dan 1,67 g/kgBB mampu memberikan proteksi nyeri, namun kemampuan proteksi masih rendah (persen proteksi berturut-turut 46,4; 46,6%) dibandingkan kontrol asetosal. DAEL 3,33 g/kgBB mampu memberikan proteksi nyeri dengan kemampuan proteksi nyeri yang lebih baik (persen proteksi sebesar 86,6%) daripada kontrol asetosal.

Pada penelitian ini menunjukkan baik sediaan infusa maupun dekokta *E. longifolia* memberikan aktivitas analgesik pada mencit terinduksi asam asetat. Hasil yang sama juga dilaporkan bahwa ekstrak metanol akar *E. longifolia* terbukti memiliki aktivitas analgesik⁽⁶⁾. Hal ini mengindikasikan, senyawa yang

Tabel 1. Jumlah geliat dan persen proteksi geliat mencit akibat perlakuan infusa dan dekokta akar *Eurycoma longifolia*.

Kelompok Perlakuan	Jumlah geliat	Persen proteksi geliat
Kontrol negatif (Akuades 25 g/kg BB)	58,2±1,0 ^b	0
Kontrol positif (Asetosal 91 mg/kg BB)	16,2±0,6 ^a	72,2
IAEL 0,83 g/kg BB	22,4±1,1 ^{a,b}	61,5
IAEL 1,67 g/kg BB	28,0±1,4 ^{a,b}	51,9
IAEL 3,33 g/kg BB	37,0±0,8 ^{a,b}	36,4
DAEL 0,83 g/kg BB	46,4±1,3 ^{a,b}	20,3
DAEL 1,67 g/kg BB	46,6±2,2 ^{a,b}	19,9
DAEL 3,33 g/kg BB	7,8±0,6 ^{a,b}	86,6

Keterangan:

IAEL : Infusa akar *E. longifolia*; DAEL : Dekokta akar *E. longifolia*

Nilai dinyatakan dalam bentuk rerata ± standar eror (n=5)

a: $p < 0,05$ dibanding kelompok kontrol negatif akuades

b: $p < 0,05$ dibanding kelompok kontrol positif asetosal

bertanggungjawab akan efek analgesik dapat tersari baik di pelarut metanol maupun air (infusa dan dekokta), yang merupakan senyawa yang polar.

Pada ketiga peringkat dosis IAEL maupun DAEL memberikan persen proteksi nyeri yang tidak tergantung dosis. Semakin besar dosis IAEL yang diberikan, kemampuan proteksi nyeri IAEL semakin rendah, sedangkan semakin besar dosis DAEL, kemampuan proteksi nyerinya semakin besar. Pada peringkat dosis yang sama, aktivitas analgesik yang diberikan berbeda baik pada sediaan infusa maupun dekokta. Pada sediaan infusa, dosis kecil (0,83 g/kgBB) memberikan aktivitas analgesik yang paling besar dibandingkan dosis lainnya. Pada sediaan dekokta, aktivitas analgesik yang paling besar ditunjukkan oleh dosis besar (3,33 g/kgBB). Pembuatan dekokta membutuhkan waktu pemanasan 30 menit, sedangkan infusa 15 menit.

Hal ini menunjukkan pada pemanasan yang lebih lama terjadi penurunan kemampuan aktivitas analgesik. Berdasarkan hal tersebut, maka terlihat bahwa lama pemanasan sediaan uji dapat mempengaruhi aktivitas yang muncul. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lanjutan kandungan senyawa yang terdapat dalam sediaan infusa maupun dekokta *E. longifolia*.

Pengujian Aktivitas Anti-inflamasi IAEL dan DAEL. Evaluasi aktivitas anti-inflamasi dilihat menggunakan metode induksi edema dengan karagenin 1% pada kaki belakang mencit. Karagenin sebagai zat inflamator merupakan senyawa iritan yang menginduksi inflamasi akut pada hewan uji tanpa menyebabkan kerusakan pada kaki hewan uji yang meradang. Mekanisme aksi karagenin sebagai senyawa penginduksi inflamasi sinergis dengan beberapa mediator inflamasi seperti bradikinin, serotonin, histamin, prostaglandin, leukotrien, dan agen kemotaktik. Karagenin menginduksi terjadinya edema melalui 2 fase yaitu: fase awal merupakan fase

pelepasan histamin, serotonin, dan bradikinin. Fase akhir dihubungkan dengan pelepasan prostaglandin dan adanya induksi *siklooksigenase* (COX) yang meningkatkan permeabilitas vaskular dan infiltrasi neutrofil yang menghasilkan radikal bebas yang dapat menimbulkan edema, terjadinya peradangan lokal atau sistemik dikaitkan dengan peningkatan sitokin pro-inflamasi tumor necrosis factor (TNF) dan interleukin (IL)⁽²⁰⁾.

Rerata tebal udem perlakuan IAEL dan DAEL dapat dilihat pada Tabel 2. Kontrol positif diklofenak dan semua kelompok perlakuan dosis (0,83; 1,67; dan 3,33 g/kg BB) baik IAEL maupun DAEL memberikan rerata AUC yang lebih rendah secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol negatif akuades. Ini berarti bahwa pada kontrol positif diklofenak dan semua kelompok perlakuan dosis infusa maupun dekokta *E. longifolia* mampu memberikan penghambatan edema/inflamasi pada mencit terinduksi karagenin.

Semua perlakuan dosis IAEL dan DAEL (0,83; 1,67; dan 3,33 g/kg BB) memberikan rerata AUC yang lebih besar secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol positif diklofenak. Ini menunjukkan baik perlakuan IAEL maupun DAEL pada semua peringkat dosis memiliki kemampuan penghambatan inflamasi lebih rendah dibandingkan kontrol diklofenak (persen penghambatan inflamasi 42,7%).

Pada penelitian ini menunjukkan sediaan infusa dan dekokta *E. longifolia* memberikan aktivitas anti-inflamasi pada mencit terinduksi karagenin. Hasil yang sama juga dilaporkan bahwa ekstrak metanol akar *E. longifolia* terbukti memiliki aktivitas anti-inflamasi⁽⁸⁾. IAEL dosis 0,83; 1,67; dan 3,33 g/kg BB memberikan persentase penghambatan inflamasi berturut-turut 25,5; 21,9 dan 29,9%, sedangkan DAEL dosis sama menunjukkan persentase berturut-turut 25,5; 26,0 dan 26,2%. Berdasarkan persentase

Tabel 2. Nilai AUC dan persen penghambatan inflamasi mencit akibat pemberian infusa dan dekokta akar *Eurycoma longifolia*

Kelompok	AUC (mm.menit)	Persentase penghambatan inflamasi
Kontrol negatif (akuades 25 g/kg BB)	446,2 ± 2,6 ^b	0
Kontrol positif (diklofenak 4,48 mg/kg BB)	255,9 ± 7,5 ^a	42,7
IAEL 0,83 g/kg BB	334,9 ± 5,6 ^{a,b}	25,0
IAEL 1,67 g/kg BB	348,6 ± 6,2 ^{a,b}	21,9
IAEL 3,33 g/kg BB	312,7 ± 4,7 ^{a,b}	29,9
DAEL 0,83 g/kg BB	332,3 ± 1,6 ^{a,b}	25,5
DAEL 1,67 g/kg BB	330,2 ± 4,9 ^{a,b}	26,0
DAEL 3,33 g/kg BB	329,5 ± 1,9 ^{a,b}	26,2

Keterangan:

IAEL : Infusa akar *E. longifolia*; DAEL : Dekokta akar *E. longifolia*; Nilai dinyatakan dalam bentuk rerata ± standar eror (n=5); a: $p < 0,05$ dibanding kelompok kontrol negatif akuades; b: $p < 0,05$ dibanding kelompok kontrol positif diklofenak.

penghambatan inflamasi tersebut terlihat bahwa aktivitas anti-inflamasi yang dihasilkan tidak tergantung dosis. Adanya peningkatan dosis, tidak meningkatkan aktivitas anti-inflamasi pada mencit terinduksi karagenin. Ini menunjukkan bahwa perbedaan waktu pemanasan antara infusa dan dekokta tidak mempengaruhi aktivitas anti-inflamasi yang ditimbulkan. Hasil ini berbeda bila dibandingkan dengan aktivitas analgesik yang menggunakan bentuk sediaan infusa dan dekokta yang sama.

Keberadaan golongan kuasinoid (*eurycomalactone*, *14,15 β -dihidroklaienanone*, dan *13,21-dehydroeurycomanone*) dari *E. longifolia* merupakan senyawa yang berperan dalam penghambatan jalur aktivasi NF- κ B^(6,8). Faktor transkripsi NF- κ B terdiri dari homo- dan heterodimer dari keluarga protein Rel yang berbeda (p65, RelB, C-Rel, p52, dan p50) dan berperan penting dalam respon imun, penyakit peradangan, dan kematian sel. Semua subunit NF- κ B berbagi homologi domain rel yang penting untuk dimerisasi, interaksi dengan protein inhibitor NF- κ B, translokasi nukleus, dan pengikatan DNA. Adanya aktivasi oleh berbagai rangsangan seperti sitokin, maka NF- κ B akan terfosforilasi oleh NF- κ B kinase, kemudian terdegradasi oleh kompleks proteasome. Degradasi NF- κ B mengarah pada pelepasan NF- κ B dari perangkat yang kompleks dan kemudian translokasi ke dalam nukleus, yang terikat pada daerah promotor dari berbagai gen seperti sitokin diantaranya TNF, IL, COX-2(10). Penghambatan NF- κ B akan berdampak pada terhambatnya transmisi nosisepsi dan timbulnya rangsang nyeri.

Adanya aktivitas analgesik dan anti-inflamasi infusa dan dekokta *E. longifolia*, dapat menjadi dasar untuk pengembangan obat tradisional untuk menghilangkan nyeri dan inflamasi. Namun penelitian lanjutan diperlukan untuk mengetahui kandungan senyawa yang bertanggung jawab dalam aktivitas analgesik maupun anti-inflamasi.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa infusa dan dekokta *E. longifolia* memiliki efek analgesik dan anti-inflamasi terhadap mencit.

DAFTAR PUSTAKA

- Baumann TJ, Herndon CM, Strickland JM. Pain management In: DiPiro, JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM, editors. *Pharmacotherapy a pathophysiologic approach*, 9th Ed. New York: Mc. Graw Hill Medical; 2014. p. 5692-712.
- Kumar S, Bajwaa BS, Kuldeep S, Kalia AN. Anti-inflammatory activity of herbal plants: a review. *International Journal of Advances in Pharmacy. Biology and Chemistry*. 2013. 2: 272-81.
- Ashley NT, Weil ZM, Nelson RJ. Inflammation: mechanisms costs and natural variation. *The Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*. 2012. 43: 385-406.
- Elfahmi, Woerdenbag HJ, Kayser O. Jamu: Indonesian traditional herbal medicine towards rational phytopharmacological use. *J Herbal Med*. 2014. 23: 1-24.
- Varghese CP, Ambrose C, Jin SC, Lim YJ, Keisaban T. Antioxidant and antiinflammatory activity of *Eurycoma longifolia* Jack a traditional medicinal plant in Malaysia. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*. 2012. 4(5): 1875-8.
- Han YM, Jang M, Kim IS, Kim SH, Yoo HH. Simultaneous quantitation of six major quassinoids in *Tongkat Ali* dietary supplements by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J Sep Sci*. 2015. 38: 2260-6.
- Rehman SU, Choe K, Yoo H. Review on a traditional herbal medicine, *Eurycoma longifolia* Jack (*Tongkat Ali*): its traditional uses, chemistry, evidence-based pharmacology and toxicology. *Molecules*. 2016. 21(331): 1-31.
- Tran TV, Malainer C, Schwaiger S, Atanasov AG, Heiss EH, Dirsch VM, et al. NF- κ B Inhibitors from *Eurycoma longifolia* Jack. *J. Nat. Prod*. 2014. 77: 483-8.
- Hajjouli S, Chateauvieux S, Teiten MH, Orlikova B, Schumacher M, Dicato M, et al. Eurycomanone and Eurycomanol from *Eurycoma longifolia* Jack as regulators of signal pathways involved in proliferation, cell death and inflammation. *Molecules*. 2014. 19(9): 14640-6.
- Niederberger E and Geisslinger G. The IKK-NF-Kb pathway: a source for novel molecular drug targets in pain therapy. *The FASEB Journal*. 2008. 22: 3432-42.
- Lawrence T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2009. 1(6): 1-10.
- Doughari JH. Phytochemicals: Extraction methods, basic structures and mode of action as potential chemotherapeutic agents. *Phytochemical – A global perspective of their role in nutrition and health*. China. 2012: 1-32.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. *Acuan Sediaan Herbal*. Jakarta: Direktorat Obat Asli Indonesia. 2010. hal. 8.
- Chaulya NC, Haldar PK, Mukherjee A. Anti-inflammatory and analgesic activity of methanol extracts of *Cyperus tegetum* Roxb. Rhizome. *Journal of PharmaSciTech* 2012. 1(2): 27-9.
- Mishra D, Ghosh G, Kumar PS, Panda PK. An experimental study of analgesic activity of selective COX-2 inhibitor with conventional NSAIDs. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2011. 4(1): 78-81.

16. Rahayu L, Dewi RS, Ayu G. Uji efek anti-inflamasi dan analgesik infusa daun senggani (*Melastoma malabathricum* L.). Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2016.14 (1): 93-8.
17. Huang SS, Huang GJ, Peng WH, Ho YL, Chang MJ, Hung HJ, et al. Analgesic and antiinflammatory activities of an aqueous extract of *Hydrocotyle batrachium* hance in mice. Mid Taiwan J Med. 2008. 13: 179-185.
18. Nunes DC, Rodrigues RS, Lucena MN, Cologna CT, Oliveira AC, Hamaguchi A, et al. Isolation and functional characterization of proinflammatory acidic phospholipase A2 from *Bothrops leucurus* snake venom. Comparative Biochemistry and Physiology. 2011. 154(3): 226-33.
19. Tjandrawinata RR, Djunarko I, Fenty, and Hendra P. Anti-inflammation effects of bioactive fraction DLBS0533 containing *Phaleria macrocarpa* and *Nigella sativa* on animal Model. Int J Pharm Pharm Sci. 2015. 7(1): 408-11.
20. Necas J, Bartosikova L. Carrageenan: a review. Veterinarni Medicina. 2013. 58: 187-205.