

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Kacang Tujuh Jurai (*Phaseolus lunatus* L)

1. Sistematika Tanaman



Gambar 1. Tanaman kacang tujuh jurai (Depkes 1994).

Tanaman kacang tujuh jurai (*Phaseolus lunatus* L) menurut Depkes (1994) memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Resales
Suku	: Papilionaceae
Marga	: Phaseolus
Jenis	: <i>Phaseolus lunatus</i> L

2. Morfologi Tanaman

Kacang koro (kratok), kacang jawa, kekara, atau lebih dikenal di Sumatra barat dengan sebutan kacang tujuh jurai (*Phaseolus lunatus*) adalah sejenis kacang-kacangan dari suku Fabaceae (Leguminosae). Semula di Indonesia dikembangkan sebagai tanaman penutup tanah, kacang tujuh jurai kemudian juga dipanen bijinya, biji yang muda, polong yang muda, pucuk dan kecambahnya, sebagai bahan makanan manusia maupun ternak. Kacang tujuh jurai berasal dari

Benua Amerika, dengan setidaknya dua pusat domestikasi jenis ini. Di daerah Amerika Tengah (Meksiko, Guatemala) untuk kultivar berbiji kecil, dan Amerika Selatan (terutama Peru) untuk kultivar berbiji besar. Setelah masa penjelajahan bangsa-bangsa Barat, kacang tujuh jurai menyebar ke berbagai tempat di dunia. Pelaut-pelaut Spanyol membawanya melintasi Pasifik ke Filipina, dan dari situ menyebar ke wilayah Asia, terutama Jawa, Burma, dan Mauritius. Sementara jalur perdagangan budak mengantarkan kacang tujuh jurai dari Brazilia ke Afrika, terutama wilayah barat dan tengah (Baudoin 1989). Tanaman kacang tujuh jurai biasa terdapat di semak, dapat tumbuh menjalar hingga sepanjang 2-5 meter, batang berbentuk bulat, hijau dan berkayu serta memiliki rambut halus di sepanjang batang. Daun majemuk biasanya berukuran panjang 5-11 cm dan lebar 3-8 cm, memiliki bunga majemuk, bentuk tandan, di ketiak daun, kelopak bentuk lonceng, berbulu halus, panjang 2-2,5 cm, berwarna hijau keputih-putihan, mahkota bentuk kupu-kupu, berambut halus, putih. Benang sari panjang 2-2,5 cm, berwarna putih, putik bertangkai, panjang 2-2,5 cm, putih kekuningan, buah berbentuk polong, berisi 3-4 biji, panjang 3-5 cm, masih muda berwarna putih kehijauan setelah tua putih kecoklatan. Biji Berbentuk ginjal, panjang \pm 2 cm, lebar \pm 1,5 cm, coklat muda, jenis akar tunggang, berwarna putih (Depkes 1994).

3. Manfaat Tanaman

3.1 Sebagai Obat Antiinflamasi. Bagian daun dari genus yang sama diyakini memiliki kandungan senyawa non steroid yang berkhasiat sebagai antiinflamator bekerja untuk mencegah pembentukan asam arakhidonat pada membran sel, obat AINS secara umum tidak menghambat biosintesis leukotrien, yang diketahui ikut berperan dalam inflamasi (Wilmana 1995).

3.2 Sebagai Obat Demam. Senyawa yang terkandung dalam tanaman kacang tujuh jurai diduga juga dapat meringankan demam yang merupakan bagian gejala dari peradangan (Nur annis *et al.* 2005).

3.3 Sebagai Obat Mengatasi Rasa Nyeri atau Sakit. Selain bermanfaat untuk mengobati demam dan inflamasi, senyawa non steroid ini bermanfaat mengatasi rasa nyeri akibat pengaruh prostaglandin (Wilmana 1995). Senyawa tersebut dijumpai berupa senyawa flavonoid. Flavonoid dapat menghambatan

siklooksigenase atau lipooksigenase dan menghambat akumulasi leukosit di daerah inflamasi sehingga dapat menjadi antiinflamasi (Agustina *et al.* 2015).

3.4 Sebagai Antioksidan. Pada genus yang sama senyawa pada bagian daun dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan (Nassar *et al.* 2010).

4. Kandungan Kimia

4.1 Flavonoid. Flavonoid diketahui terdistribusi secara luas pada tanaman. Peranan senyawa ini di tanaman cukup beragam, mulai dari memproduksi pigmen berwarna kuning, merah, atau biru pada bunga, hingga sebagai penangkal terhadap mikroba dan insekta. Senyawa ini memiliki struktur dasar yang dibangun oleh 15 atom C ($C_6-C_3-C_6$) (Andarwulan & Faradila 2012). Flavonoid merupakan turunan dari 2-fenilbenzopirene yang mengandung 3 cincin (A,B,C). Struktur dasar ini merupakan 2 cincin benzena (A dan B) yang dihubungkan dengan cincin heterosiklik di tengah (C) (Simanjuntak 2012). Secara umum flavonoid dapat dibagi ke dalam tiga jenis berdasarkan perbedaan struktur C_3 yang mengikat dua gugus benzena. Ketiga jenis tersebut adalah kalkon, auron, dan flavonoid. Lebih lanjut, berdasarkan posisi cincin B terhadap cincin C pada flavonoid, senyawa flavonoid dapat dibagi menjadi tiga jenis, yaitu flavonoid (2-fenilbenzopiran), isoflavonoid (3-benzopiran), dan neoflavonoid. Berdasarkan tingkat oksidasi dan kejenuhannya pada cincin C pada flavonoid, flavonoid dapat dibagi menjadi delapan jenis, yaitu flavan, flavanon, flavon, flavonol, dihidroflavonol, flavan-3-ol, flavan-4-ol, flavan-3,4-diol (Andarwulan & Faradila 2012). Flavonoid telah diteliti memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antikanker, antiviral, antiinflamasi, mengurangi resiko penyakit kardiovaskuler dan penangkap radikal bebas. Kekuatan aktivitas antioksidan dari flavonoid bergantung pada jumlah dan posisi dari gugus -OH yang terdapat pada molekul. Semakin banyak gugus -OH pada flavonoid, maka aktivitas antiradikalnya semakin tinggi. Adanya gugus *orto*-katekol (3,4,-OH) pada cincin B flavonoid merupakan faktor penentu kapasitas antioksidan yang tinggi (Amic *et al.* 2003).

4.2 Saponin. Saponin adalah suatu glikosida yang terdapat pada banyak macam tanaman. Saponin ada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu, dipengaruhi oleh varietas tanaman dan tahap

pertumbuhan. Fungsi dalam tumbuh-tumbuhan sebagai bentuk penyimpanan karbohidrat, atau merupakan *waste product* dari metabolisme tumbuh-tumbuhan dan sebagai pelindung terhadap serangan serangga (Sirait 2007).

4.3 Polifenol. Polifenol adalah senyawa yang tersusun dari banyak senyawa fenol. Fenol merupakan senyawa non gizi yang mempunyai minimal satu cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil, sedangkan senyawa polifenol mempunyai lebih dari satu cincin aromatik. Sumber senyawa polifenol adalah teh, kopi, buah-buahan, minyak zaitun, cinnamon, dan sebagainya. Selama fermentasi berlangsung, polifenol membentuk kompleks kuat dengan protein. (Prayoga 2010).

B. Simplisia

1. Definisi Simplisia

Simplisia merupakan bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami proses apapun kecuali dinyatakan lain, umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral (Gunawan & Mulyani 2004).

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia berupa bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia harus memenuhi persyaratan, minimal untuk menjamin keseragaman senyawa aktif, keamanan maupun kegunaannya. Faktor yang mempengaruhi yaitu bahan baku simplisia, proses pembuatan simplisia serta cara penyimpanan bahan baku simplisia dan cara pengepakan (Gunawan & Mulyani 2004).

2. Pengerinan

Pengerinan simplisia bertujuan untuk mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik sehingga mencegah penurunan waktu penyimpanan serta berguna untuk menghindari simplisia mudah rusak, berjamur, dan kandungan bahan aktifnya berubah. Pengerinan dapat dilakukan dengan dua cara yaitu pengerinan secara alamiah dan pengerinan buatan. Pengerinan secara alamiah dilakukan dengan cara menjemur simplisia di bawah sinar matahari langsung dan sangat tergantung cuaca. Cara ini terutama digunakan untuk mengeringkan bagian tanaman yang lunak seperti bunga, daun dan sebagainya. Pengerinan secara buatan dilakukan menggunakan mesin pengerinan seperti mesin pemanas (oven) bertenaga listrik atau diesel. Panas yang dihasilkan mesin lebih stabil sehingga pengerinan lebih terkontrol, waktu pengerinan tidak tergantung cuaca, proses pengerinan lebih cepat dan kualitas yang dihasilkan lebih baik. Hal-hal yang perlu diperhatikan saat pengerinan ialah suhu pengerinan, kelembapan udara, aliran udara, waktu pengerinan, dan luas permukaan bahan (Sudewo 2009).

C. Ekstrak

1. Definisi Ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes 1995).

2. Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah segala proses penarikan zat utama yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih berdasarkan zat yang ingin dilarutkan. Bahan-bahan tanaman terdiri dari campuran zat yang berbeda-beda, beberapa bahan ada yang mempunyai efek farmakologi dan oleh karena itu dianggap sebagai zat yang dibutuhkan dan yang lain jika tidak aktif secara farmakologi dianggap sebagai zat inert (Ansel *et al.* 2011).

Ekstraksi serbuk kering jaringan tumbuhan dapat dilakukan secara maserasi, refluks, atau soxhletasi dengan menggunakan pelarut yang tingkat kepolarannya berbeda (Putra *et al.* 2014).

2.1 Maserasi. Maserasi berasal dari kata “macerare” artinya melunakkan. Maserata adalah hasil penarikan simplisia dengan cara maserasi, sedangkan maserasi adalah cara penarikan simplisia dengan merendam simplisia tersebut dalam cairan penyari pada suhu biasa ataupun memakai pemanasan (Syamsuni & Winny 2012). Kelemahan utama dari metode maserasi ini adalah prosesnya yang cukup memakan waktu yang lama, dan berlangsung dalam beberapa jam sampai beberapa minggu. Ekstraksi secara menyeluruh juga dapat menghabiskan sejumlah besar volume pelarut dan berpotensi dapat hilangnya metabolit. Selain itu, beberapa senyawa tidak terekstraksi jika kurang larut dalam suhu kamar (BPOM 2000).

2.2 Remaserasi. Remaserasi adalah ekstraksi dengan cara suatu bagian serbuk kering simplisia ditambah 10 bagian pelarut, direndam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk dan didiamkan selama 18 jam. Maserat dipisahkan dengan cara pengendapan sentrifugasi dan filtrasi. Proses penyarian diulangi sekurang-kurangnya dua kali dengan jenis dan pelarut yang sama (Depkes 2008).

2.3 Perkolasi. Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadinya penyarian sempurna yang umumnya dilakukan dengan suhu kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap perendaman, tahap perkolasi antara, dan tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak) secara terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat). Perkolasi adalah prosedur yang paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dalam penyusunan tingtur dan ekstrak cairan (Tiwari *et al.* 2011).

Proses perkolasi terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap perendaman antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan perkolat) sampai diperoleh ekstrak (Depkes 2000).

2.4 Refluks. Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya dalam jangka waktu tertentu dimana pelarut akan terkondensasi menuju pendingin dan kembali ke labu. Ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik

didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Kekurangan yang utama dari metode ini adalah terdegradasinya komponen yang tidak tahan panas (BPOM 2000).

2.5 Soxhletasi. Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan menggunakan soklet sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan sejumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes 2000). Keuntungan proses ini jika dibandingkan dengan proses lainnya yaitu dapat mengekstrak bahan aktif dengan lebih banyak walaupun menggunakan pelarut yang lebih sedikit (Endarini 2016).

3. Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam proses pemisahan ekstrak harus selektif yaitu pelarut yang digunakan mampu menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, diperbolehkan untuk peraturan. Beberapa faktor penting yang dapat dipertimbangkan dalam pemilihan pelarut adalah mudah diperoleh dan murah, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral (Depkes 1986).

Pemakaian etanol 70% sebagai pelarut karena etanol 70% dapat melarutkan senyawa organik dalam tumbuhan baik dalam yang berifat polar maupun nonpolar, tidak beracun, tidak mudah ditumbuhi kapang dan kuman, dan pemanasan yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Disamping itu etanol 70% mempunyai titik didih yang rendah ($78,4^{\circ}\text{C}$) sehingga mudah diuapkan, aman digunakan dan mudah mendapatkannya (Inayati 2010).

3.1 Etanol. Pelarut etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) atau dengan nama lain etil alkohol, hidroksietana, alkohol absolut dan alkohol murni. etanol merupakan molekul yang sangat polar karena adanya gugus hidroksil (OH) dengan keelektronegatifan oksigennya yang sangat tinggi sehingga menimbulkan terjadinya suatu ikatan hydrogen dengan suatu molekul lain, sehingga etanol dapat berikatan dengan molekul non polar karena adanya gugus etil (C_2H_5) yang sifatnya adalah non polar. Etanol dapat melarutkan senyawa polar dan non polar. Etanol merupakan alkohol yang paling tidak beracun (apabila dalam jumlah sedikit), umumnya digunakan sebagai pelarut, dan sebagai antiseptik. Etanol memiliki berat molekul

46,06 gram/mol, massa jenis 0,789 gram/cm³, titik didih 78,4°C, dan tidak ada warna. Etanol mempunyai kelarutan yang relatif tinggi dan bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lainnya. Etanol lebih mudah menembus membran sel intraseluler dari bahan tanaman. Etanol memiliki titik didih rendah sehingga mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi (Susanti *et al.* 2012).

3.2 *n*-Heksan. Pelarut *n*-heksan merupakan hasil penyulingan minyak tanah yang terdiri dari suatu campuran rangkaian hidrokarbon, transparan, tidak berwarna, mudah terbakar, tidak larut dalam air, dapat larut dalam alkohol, benzene, kloroform, dan eter. Pelarut *n*-heksan dapat melarutkan senyawa yang sifatnya non polar seperti sterol, terpenoid, triterpenoid dan fenil propanoid (Triwari *et al.* 2011). *n*-heksan mudah menguap sehingga mudah dalam proses refluks. *n*-heksan mempunyai titik didih antara 65°C-70°C (Susanti *et al.* 2012).

3.3 Etil Asetat. Pelarut etil asetat merupakan jenis pelarut yang bersifat semi polar. Etil asetat memiliki titik didih yang relatif rendah yaitu 77°C sehingga memudahkan pada proses pemisahan minyak dari pelarutnya dalam proses destilasi. Wujud dari pelarut etil asetat yaitu berupa cairan tak mempunyai warna dan bau yang khas (Triwari *et al.* 2011). Senyawa yang dapat larut ke dalam pelarut etil asetat yaitu alkaloid, flavonoid, polifenol (Harbone 1987).

3.4 Air. Air dipertimbangkan sebagai pelarut karena sifatnya stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak toksik, mudah diperoleh dan alamiah. Air dapat melarutkan enzim yang terlarut dengan adanya air akan menyebabkan reaksi enzimatik, yang mengakibatkan penurunan mutu, tetapi adanya air akan mempercepat proses hidrolisis. Senyawa yang dapat larut dalam pelarut air adalah garam alkaloid, minyak menguap, glikosida, gula, gom, pati, protein, saponin, dan tanin (Depkes 1986).

3.5 Metanol. Metanol merupakan pelarut yang sering digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam (Susanti *et al.* 2012). Metanol memiliki gugus (CH₃) dan gugus (-OH) (Astarina 2013).

D. Inflamasi

1. Definisi Inflamasi

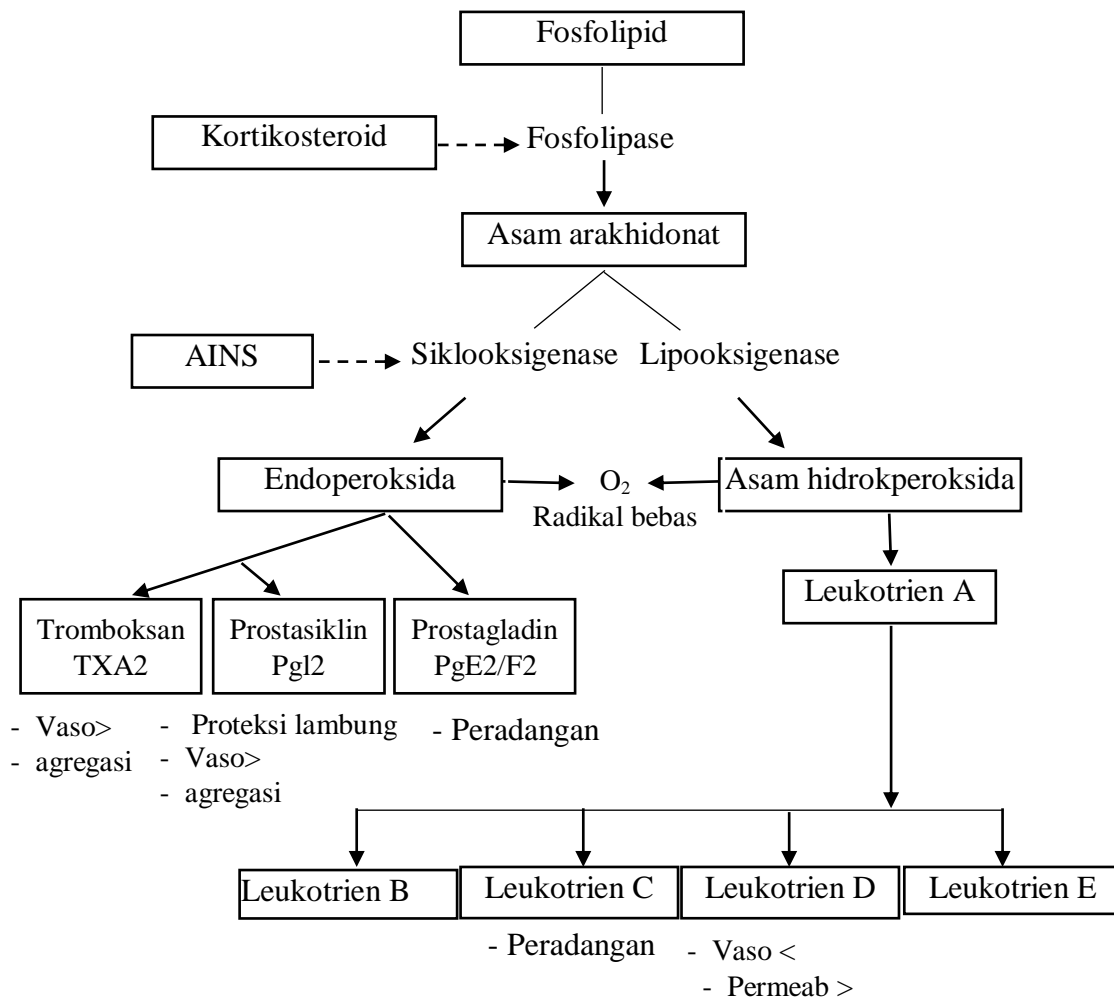
Inflamasi merupakan respon jaringan terhadap suatu rangsangan yang merusak secara kimia, fisika, dan biologi. Seperti kerusakan jaringan akibat radiasi panas, infeksi, bakteri dan lainnya. Rangsangan yang merusak tersebut menyebabkan pecahnya sel mast dan melepaskan mediator-mediator inflamasi dan enzim-enzim lisosom yang berperan pada proses inflamasi. Gejala inflamasi yaitu terjadinya panas (kalor), kemerahan (rubor), nyeri (dolor) dan gangguan fungsi (fungsi laesa) (Tjay & Kirana 2002).

Gejala-gejala ini merupakan akibat dari meningkatnya permeabilitas kapiler dan migrasi leukosit ke daerah jaringan yang mengalami inflamasi seperti histamin, serotonin, bradikinin dan prostaglandin.

Infeksi atau radang dapat disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu Trauma mekanis, radiasi (sinar UV), kerusakan kimia langsung atau bahan kimia yang bersifat kaustik atau korosif, kerusakan kimia tidak langsung dari bahan pengawet dan pewarna makanan, organisme pengganggu seperti virus, bakteri, dan parasit (Bowman 1980).

2. Mekanisme Terjadinya Inflamasi

Terjadinya inflamasi dimulai saat adanya stimulus yang merusak jaringan, sehingga mengakibatkan sel mast dan terlepasnya mediator-mediator inflamasi. Terjadi vasodilatasi dari seluruh pembuluh darah pada daerah inflamasi sehingga aliran darah kapiler dan venula, yang menyebabkan sel-sel endotel pembuluh darah meregang dan terjadi kenaikan permeabilitas pembuluh darah, protein plasma keluar dari pembuluh, timbullah edema. Infiltrasi leukosit ke tempat inflamasi, pada tingkat awal infiltrasi oleh neutrophil, selanjutnya infiltrasi oleh sel monosit. Kedua jenis leukosit ini berasal dari pembuluh darah, melengket pada dinding endothelium venula kemudian menuju daerah inflamasi dan memfagositosis penyebab inflamasi (Guyton 1995).



Gambar 2. Mekanisme Inflamasi (Tjay & Kirana 2002).

3. Macam-Macam Inflamasi

Berdasarkan tipe terjadinya, inflamasi dibagi atas 2 macam :

3.1 Inflamasi Akut. Inflamasi ini ditandai dengan kemerahan dan panas yang terlihat jelas pada jaringan luar. Hal ini akibat pecahnya sel mast sehingga melepaskan mediator-mediator inflamasi dan enzim lisosom serta ditandai dengan banyaknya leukosit, selain dari peristiwa tersebut, terjadi eksudasi cairan plasma ke tempat inflamasi yang terus meningkat sehingga terbentuk cairan eksudat yang ditandai dengan edema. Inflamasi akut akan hilang setelah satu atau dua hari karena mempunyai waktu kerja yang pendek. Sebagai contoh inflamasi akut ini adalah inflamasi akibat gigitan serangga, akibat luka dan lainnya (Underwood 1999).

3.2 Inflamasi Kronik. Inflamasi tipe ini ditandai dengan banyaknya eksudat jaringan granulomatosis, monositosis, limfositosis dan penggumpalan plasma sel. Akibatnya jaringan mengalami fibrosis dan timbulah hyperplasia disekitar jaringan. Tetapi hal ini dapat terjadi tergantung dari kedudukan dan kondisi inflamasi kronik. Elemen-elemen jaringan yang diserang akan menghasilkan reaksi imun antara suatu antigen dengan suatu antibodi yang merangsang terjadinya inflamasi. Inflamasi kronik mempunyai waktu kerja yang lama. Sebagai contoh inflamasi kronik adalah inflamasi akibat tuberkolosis dan rematoid arthritis (Guyton 1995).

4. Golongan Obat Antiinflamasi

Obat-obat antiinflamasi adalah obat yang memiliki aktifitas menekan atau mengurangi peradangan. Aktifitas ini dapat dicapai melalui berbagai cara yaitu menghambat pembentukan mediator radang prostaglandin, menghambat migrasi sel-sel leukosit ke daerah radang, menghambat pelepasan prostaglandin dari sel-sel tempat pembentuknya.

4.1 Antiinflamasi Steroid. Antiinflamasi steroid, Bekerja dengan cara menghambat pelepasan prostaglandin dari sel-sel sumbernya, termasuk golongan obat ini antara lain hidrokortison, prednison, prednisolon, triamsolon, deksametason, dan betametason (Bowman 1980).

4.2 Antiinflamasi Non Steroid. Antiinflamasi non steroid, Bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase sehingga konversi asam arakhidonat menjadi PGG₂ terganggu. Termasuk golongan obat ini adalah: aspirin, ibuprofen, naprosen, fenoprofen, indometasin, sulindak, tolmetin, fenilbutazon, piroksikam, asam mefenamat, dan diflunisal. Indikasi obat-obat ini adalah penyakit yang disertai radang terutama penyakit reumatik yang disertai peradangan. Efek samping yang sering terjadi adalah induksi tukak lambung atau tukak peptic yang kadang-kadang disertai anemia sekunder akibat pendarahan saluran cerna (Tjay & Rahardja 2002).

5. Natrium Diklofenak

Natrium diklofenak merupakan salah satu obat antiinflamasi non steroid yang bekerja menghambat enzim siklooksigenase yang berperan dalam

metabolisme asam arakhidonat menjadi prostaglandin yang merupakan salah satu mediator inflamasi. Natrium diklofenak merupakan derivat fenil asetat yang mempunyai daya antiinflamasi yang paling kuat dengan efek samping yang kecil dibandingkan dengan obat lainnya (seperti indometasin dan piroxikam) (Tjay & Rahardja 2002).

Obat ini sering digunakan untuk segala macam nyeri pada migrain dan encok. Absorpsi obat ini melalui saluran cerna berlangsung cepat dan lengkap yang terikat 99% pada protein plasma dan mengalami efek lintas pertama (*first-effect*) sebesar 40-50%. Walaupun waktu singkat yakni 1-3 jam, natrium diklofenak diakumulasi di cairan sinovial yang menjelaskan efek terapi di sendi jauh lebih panjang dari waktu paruh obat tersebut. Efek samping yang lazim adalah mual, gastritis, eritema kulit, dan sakit kepala. Pemakaian obat ini harus berhati-hati pada penderita tukak lambung dan pemakaian selama kehamilan tidak dianjurkan (Tjay & Rahardja 2002).

6. Penginduksi Inflamasi

6.1 Karagenan. Iritan yang digunakan untuk pengujian efek antiinflamasi beragam jenisnya, satu diantaranya adalah karagenan. Karagenan merupakan polisakarida hasil ekstraksi rumput laut dari family *Chondrus*, *Euchema*, dan *Gigartina*. Berikutnya berupa serbuk berwarna putih hingga kuning kecoklatan ada yang berbentuk butiran kasar hingga serbuk halus, tidak berbau, serta memberi rasa berlendir di lidah. Karagenan juga memiliki sifat larut air bersuhu 80°C (Rowe *et al.* 2009).

Karagenan dibagi atas tiga kelompok utama yaitu

6.1.1 Kappa Karagenan. Kappa karagenan terdiri dari unit D-galaktosa 4 sulfat dan 3,6 anhidro D-galaktosa. Karagenan juga sering mengandung D-galaktosa 6 sulfat ester dan 3,6 anhidro D-galaktosa 2 sulfat ester (Winarto 2008). Kappa karagenan merupakan jenis yang paling banyak terdapat di alam dan dapat ditemui pada *Chondrus crispus* dan didominasi pada *Euchema cottonii*. Karagenan jenis ini akan terputus pada larutan asam, namun setelah gel terbentuk, karagenan ini akan resisten terhadap degradasi. Kappa karagenan membentuk gel yang kuat pada larutan yang mengandung garam (Ensminger 1994).

6.1.2 Iota Karagenan. Iota ditandai dengan adanya 4 sulfat ester pada setiap residu D-galaktosa dan gugus 2 sulfat ester pada setiap gugus 3,6 anhidro D-galaktosa (Winarto 2008). Iota karagenan jenis yang paling sedikit jumlahnya di alam, dapat ditemukan pada *Euchema spinosum* (rumput laut) dan karagenan yang paling stabil pada larutan asam serta membentuk gel yang kuat pada larutan yang mengandung asam (Ensminger 1994).

6.1.3 Lamda Karagenan. Lamda karagenan berbeda dengan kappa dan iota karagenan, karena memiliki sebuah residu *disulphated α (1,4)* D-galaktosa (Winarto 2008). Jenis ini adalah jenis karagenan terbanyak kedua di alam serta merupakan komponen utama pada *Gigartina acicularis* dan *Gigantina pistillata* dan menyusun 40% dari *Chondrus crispus*. Jenis ini paling stabil setelah iota karagenan pada larutan asam (Ensminger 1994).

Ada tiga fase pembentukan edema yang diinduksi oleh karagenan. Fase pertama adalah pelepasan histamin dan serotonin yang berlangsung selama 90 menit. Fase kedua adalah pelepasan bradikinin yang terjadi pada 1,5 sampai 2,5 jam setelah induksi. Pada fase ketiga, terjadi pelepasan prostaglandin pada 3 jam setelah induksi, kemudian edema berkembang cepat dan bertahan pada volume maksimal, yaitu sekitar 5 jam setelah diinduksi (Morris 2003).

6.2 Larutan Histamin. Metode yang digunakan untuk induksi ini hampir sama dengan induksi karagenan, namun penginduksi yang digunakan adalah 0,1 ml larutan histamin 1% (Gilda 2014).

6.3 Asam Asetat. Larutan asam asetat 0,6% diinjeksi 0,25 ml secara intraperitoneal. Segera setelah pemberian, 10 mg/kg. Kemudian isi perutnya dialiri akuades yang selanjutnya ditampung dalam cawan petri. Eksudat tersebut kemudian difiltrasi hingga mencapai 10 ml. Selanjutnya, melalui filtrat tersebut diukur *dyes* yang melekat didalam ruang abdomen dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang *visible*, lalu dibandingkan dengan kelompok kontrol (Gilda 2014).

6.4 Xilena. Tiap hewan uji mendapatkan 30 μ l xilena dengan menggunakan mikropipet pada bagian luar dan dalam telinga. Telinga kiri sebagai

kontrol. Terdapat dua parameter yang diukur dalam metode ini, yaitu ketebalan dan bobot daun telinga tikus (Gilda 2014).

6.5 Asam Arakidonat. Induksi inflamasi diberikan secara topikal asam arakhidonat 2 mg dalam 20 μ l aseton pada kedua permukaan daun telinga kanan (Eka 2017).

E. Beberapa Metode Uji Antiinflamasi

1. Metode Pembentukan Edema Buatan

Metode pembentukan edema buatan ini berdasarkan pengukuran dari volume edema buatan. Volume edema diukur sebelum dan sesudah pemberian zat yang di uji. Beberapa iritan yang dipakai sebagai penginduksi edema antara lain formalin, kaolin, ragi dan dekstran. Iritan yang umum digunakan dan memiliki kepekaan yang tinggi adalah karagenan (Vogel 2002).

2. Metode Pembentukan Eritema

Metode pembentukan eritema ini berdasarkan pegamatan secara visual terhadap eritema pada kulit hewan yang telah dicukur bulunya. Eritema dibentuk akibat iritasi sinar UV selama 20 detik, sehingga terjadi vasodilatasi yang diikuti dengan meningkatnya permeabilitas pembuluh darah dan leukositosis lokal. Dua jam kemudian eritema yang terbentuk diamati (Vogel 2002).

3. Metode Iritasi Dengan Panas

Metode iritasi dengan panas ini berdasarkan pengukuran luas radang dan berat edema yang terbentuk setelah diiritasi dengan panas. Mula-mula hewan diberi zat warna tripan biru yang disuntik secara IV, dimana zat ini akan berikatan dengan albumin plasma. Kemudian pada daerah penyuntikan tersebut dirangsang dengan panas yang cukup tinggi. Panas menyebabkan pembebasan histamin endogen sehingga timbul efek inflamasi. Zat warna akan keluar dari dalam pembuluh darah yang mengalami dilatasi bersama-sama dengan albumin plasma sehingga jaringan yang meradang kelihatan berwarna. Penilaian derajat inflamasi diketahui dengan mengukur luas radang akibat perembesan zat ke jaringan yang meradang. Pengukuran juga dapat dilakukan dengan menimbang edema yang terbentuk, dimana jaringan yang meradang dipotong kemudian ditimbang (Vogel 2002).

4. Metode Pembentukan Kantong Granuloma

Metode pembentukan kantong granuloma ini berdasarkan pengukuran volume eksudat yang terbentuk di dalam kantong granuloma. Mula-mula benda terbentuk pelet yang terbuat dari kapas yang ditanam di bawah kulit abdomen tikus menembus lapisan linia alba. Respon yang terjadi berupa gejala iritasi, migrasi, leukosit dan timbul granuloma (Vogel 2002).

5. Metode Iritasi Pleura

Metode iritasi pleura ini berdasarkan pengukuran volume eksudat yang terbentuk karena iritasi dengan induktor radang. Adanya aktifitas obat yang diuji ditandai dengan berkurangnya volume eksudat. Obat diberikan secara oral. Satu jam kemudian disuntik dengan induktor radang seperti formalin secara intra pleura. Setelah 24 jam, hewan dibunuh dengan eter lalu rongga pleura dibuka dan volume eksudat inflamasi diukur (Turner 1965).

6. Metode Penumpukan Kristal Sinovitis

Pada percobaan ini telapak kaki tikus disuntik dengan suspensi ragi brewer dalam larutan metil selulosa secara subkutan. Akibat penyuntikkan ini menyebabkan peningkatan suhu rektal lebih kurang 2°C atau lebih. Pada waktu 18 jam setelah penyuntikkan diberikan obat secara oral dan suhu rektal diukur dalam selang 30 menit (Vogel 2002).

F. Hewan Percobaan

Dalam pelaksanaan suatu penelitian, peneliti harus membuat dan menyesuaikan protokol dengan standar yang berlaku secara ilmiah dan etik penelitian kesehatan. Etik penelitian kesehatan secara umum tercantum dalam *World Medical Association*, yaitu: *respect* (menghormati hak dan martabat makhluk hidup, kebebasan memilih dan berkeinginan, serta bertanggung jawab terhadap dirinya, termasuk didalamnya hewan coba), *beneficiary* (bermanfaat untuk manusia dan makhluk lain, manfaat yang didapatkan harus lebih besar dibandingkan dengan resiko yang diterima), dan *justice* (bersikap adil dalam memanfaatkan hewan percobaan) (Ridwan 2013).

1. Sistematika Tikus Putih

Sistematika tikus menurut Depkes (2009), sebagai berikut :

Dunia	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Classis	: Mamalia
Sub Classis	: Plasentalia
Orde	: Rodentia
Familia	: Murindae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvergicus</i>

2. Karakteristik Tikus

Tikus adalah hewan yang relatif resisten terhadap infeksi dan tikus juga merupakan hewan yang cerdas. Tikus putih umumnya tenang dan mudah ditangani. Tikus putih bersifat fotopobik seperti halnya mencit cenderung untuk berkumpul dengan sesamanya tidak begitu besar. Suhu tubuhnya 37,5°C dan apabila diperlakukan kasar tikus akan menjadi galak dan biasanya akan menyerang pemegangnya (Sugiyanto 1995). Tikus galur wistar memiliki bobot yang lebih ringan dan lebih galak daripada galur *sprague dawley*. Tikus ini banyak digunakan pada penelitian toksikologi, penyakit infeksi, uji efikasi, dan aging (Stevani 2016).

Hewan uji merupakan suatu sumber variasi availabilitas sistemik, distribusi dan kecepatan eliminasi obat-obat. Tikus jantan kecepatan metabolisme lebih cepat dibandingkan tikus betina (Sugiyanto 1995).

3. Kondisi Ruang dan Pemeliharaan Hewan Uji

Menempatkan hewan pengerat seperti tikus di laboratorium sesuai dengan lingkungannya bertujuan untuk mengoptimalkan kesejahteraan hewan dan merupakan hal penting yang perlu dipertimbangkan. Pengaturan perkandangan yang ideal harus mempertimbangkan aspek sosial, alat gerak, fisiologis, dan persyaratan perilaku spesies tertentu. Luas lantai kandang untuk sekelompok tikus dengan jumlah hingga lima ekor tikus dengan berat badan 250-300 gram

adalah 1500 cm² dan sebaiknya 1800 cm² (Patterson dan Kane 2002). Ketinggian bagian atas kandang tikus dengan berat 250-300 gram adalah 22 cm. Kandang tikus dibuat dari plastik (misal *polypropylene*, *polycarbonate*, *polysulphone*, *poly etherimide*), lantai dan dinding bak dengan *wire mesh* pada puncaknya kecuali kandang untuk tujuan khusus seperti kandang dengan filter pada bagian atas kandang atau berventilasi. Suhu ruangan kandang berkisar antara 20-26°C dengan kelembaban udara berkisar 40-70%. Semua hewan harus disediakan air segar dan pakan untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup yang optimal. Diet dengan nutrisi yang memadai harus disediakan untuk tikus. Pakan dan air minum harus disediakan secara *ad libitum* kecuali izin khusus telah diperoleh dari Komisi Etik Hewan (Balitbangtan 2016).

4. Cara Pemberian Obat

Pertama-tama spuit diisi dengan sediaan uji dengan volume yang sudah ditentukan, kemudian pegang tikus dan masukkan ujung kanul sampai rongga tekak lalu berikan sediaan uji tersebut secara perlahan agar tidak tumpah-tumpah. Ditunggu beberapa detik agar sediaan uji masuk semua ke dalam saluran pencernaan, kemudian hewan uji dikembalikan ke kandang (Harmita & Radji 2005).

5. Cara Pemegangan dan Penandaan Hewan Uji

Penanganan dan pengendalian merupakan prosedur yang penting bagi petugas yang bekerja dengan tikus. Petugas harus memahami bagaimana cara yang benar dalam menangani hewan, meminimalisir rasa takut dan tertekan. Tikus dipegang dengan lembut dengan memegang seluruh tubuh secara tegas serta meminimalkan gerakan hewan. Memegang tikus terlalu kuat dapat mengganggu pernapasan dan akan menyebabkan sianosis. Untuk memegang tikus harus dilakukan dengan lembut dimulai dari memegang di sekitar bahu. Ibu jari petugas ditempatkan di bawah mandibula tikus, untuk mencegah gigitan, dan *hindlimbs* tikus dapat didukung dengan sisi lain. Cara memegang tikus harus tegas tapi tidak terlalu ketat karena hal ini akan menghambat respirasi hewan (Balitbangtan 2016).

Tujuan dari pemberian tanda pada hewan coba disamping untuk mencegah kekeliruan hewan dalam sistem pembiakkannya juga untuk mempermudah dalam

percobaan. Berbagai macam cara yang dipakai dalam identifikasi tergantung kepada selera dan lama tidaknya hewan tersebut dipelihara. Beberapa penandaan hewan uji diantaranya *marking, ear puching, too clipping, ear tags, tattocing*, dan *coat colors* (Sulaksono 1987).

6. Mengorbankan Tikus

Pembunuhan pada hewan uji dilakukan dengan cara memberikan cairan anastesi dosis berlebih. Pemberian cairan anastesi diberikan kepada tikus secara intraperitoneal, dapat juga dengan menggunakan kloroform, CO₂, N₂, inhalasi atau secara fisik, tetapi harus dilakukan seminimal mungkin agar tidak membuat hewan uji menderita saat dikorbankan (Harmita 2005).

G. Landasan Teori

Inflamasi atau radang merupakan proses respon tubuh terhadap rangsangan merugikan yang ditimbulkan oleh berbagai bahan berbahaya seperti infeksi, antibodi ataupun luka fisik (Goodman dan Gilman 2006). Gejala inflamasi yaitu terjadinya panas (kalor), kemerahan (rubor), nyeri (dolor) dan gangguan fungsi (fungsi laesa) (Tjay & Rahardja 2002).

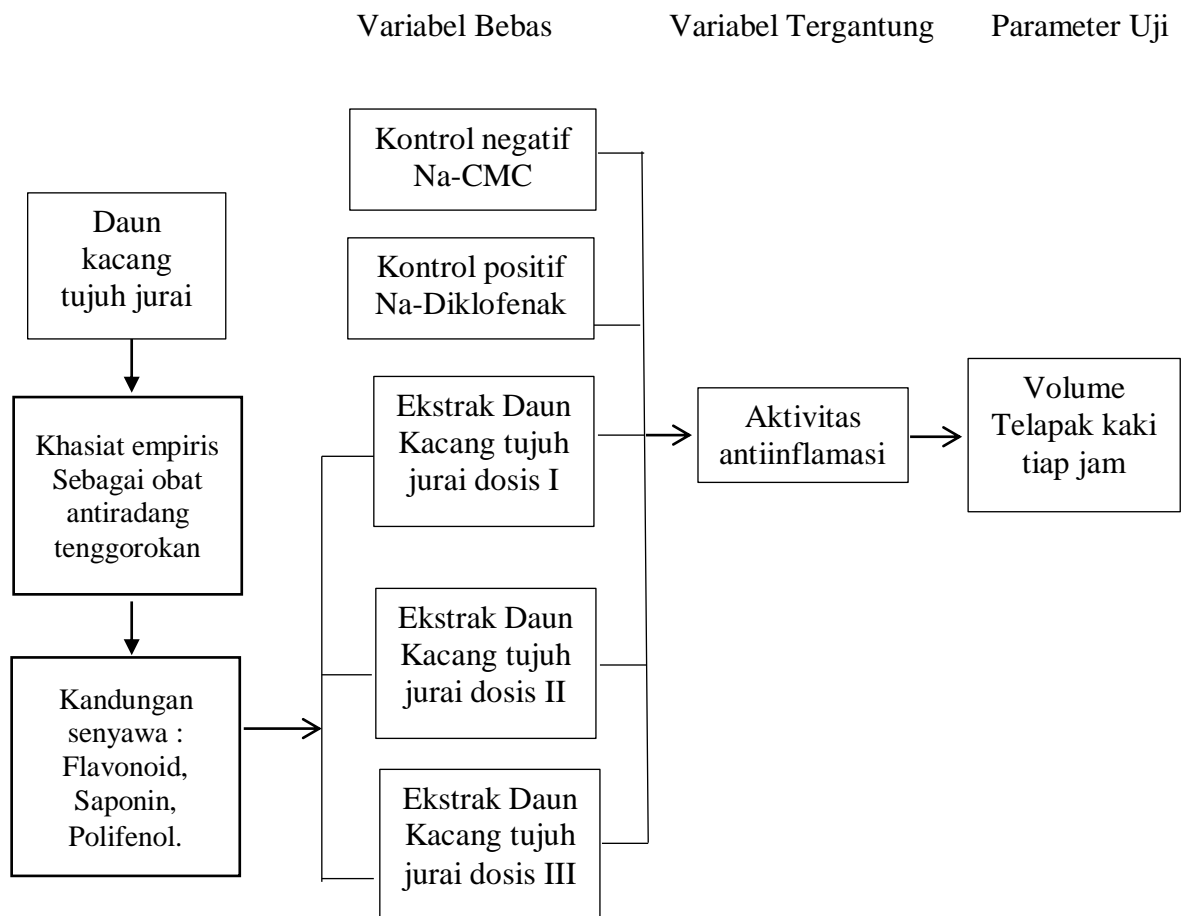
Terjadinya inflamasi dimulai dengan adanya stimulus yang merusak jaringan, sehingga mengakibatkan sel mast dan terlepasnya mediator-mediator inflamasi. Terjadi vasodilatasi dari seluruh pembuluh darah pada daerah inflamasi sehingga aliran darah kapiler dan venula, yang menyebabkan sel-sel endotel pembuluh darah meregang dan terjadi kenaikan permeabilitas pembuluh darah, protein plasma keluar dari pembuluh, timbullah edma. Infiltrasi leukosit ke tempat inflamasi, pada tingkat awal infiltrasi oleh neutrophil, selanjutnya infiltrasi oleh sel monosit. Kedua jenis leukosit ini berasal dari pembuluh darah, melengket pada dinding endothelium venula kemudian menuju daerah inflamasi dan memfagositosis penyebab inflamasi. Secara kronologi jenis inflamasi ini termasuk tipe inflamasi akut (Guyton 1994).

Obat antiinflamasi yang biasa digunakan dibagi menjadi dua, yaitu antiinflamasi steroid dan antiinflamasi nonsteroid (Widiyantoro *et al.* 2012). Dari berbagai hasil penelitian, kandungan kimia yang memiliki khasiat sebagai

antiinflamasi adalah flavonoid. Flavonoid dapat menghambat siklooksigenase atau lipooksigenase dan menghambat akumulasi leukosit di daerah inflamasi sehingga dapat menjadi antiinflamasi (Agustina *et al.* 2015). Disebutkan juga bahwa Senyawa golongan flavonoid menunjukkan aktivitas farmakologi antiinflamasi (Amelie *et al.* 2010). Tikus putih jantan digunakan sebagai hewan uji dapat memberikan hasil penelitian lebih stabil karena tidak dipengaruhi oleh adanya siklus menstruasi atau kehamilan pada tikus betina. Tikus putih jantan juga mempunyai kecepatan metabolisme obat yang lebih cepat dan kondisi biologis yang stabil dibandingkan betina (Sugiyanto 1995). Karagenan merupakan iritan sebagai induksi yang merupakan polisakarida hasil ekstraksi rumput laut dari family Euchema, Chondrus, dan Gigartina. Bentuknya berupa serbuk butiran kasar hingga halus, tidak berbau, serta memberi rasa berlendir di lidah. Karagenan juga memiliki sifat larut dalam air bersuhu 80°C (Rowe *et al.* 2009).

Metode yang akan digunakan adalah metode pembentukan edema buatan, metode ini berdasarkan pengukuran dari volume edema buatan. Volume edema diukur sebelum dan sesudah pemberian zat yang diujikan. Beberapa iritan yang dipakai sebagai penginduksi edema antara lain formalin, kaolin, ragi dan dekstran. Iritan yang umum digunakan dan memiliki kepekaan yang tinggi adalah karagenan (Vogel 2002).

H. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3. Kerangka konsep penelitian.

I. Hipotesis

Pertama, ekstrak etanol daun kacang tujuh jurai (*Phaseolus lunatus* L) memiliki senyawa yang memiliki aktivitas farmakologi sebagai antiinflamasi.

Kedua, dosis paling efektif ekstrak etanol daun kacang tujuh jurai (*Phaseolus lunatus* L) yang dapat memberikan efek antiinflamasi pada hewan uji tikus putih jantan yang diinduksi karagenan adalah 56,700 mg/Kg BB.