

BAB IV

Hasil dan pembahasan

A. Tanaman Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav)

1. Hasil determinasi tanaman daun sirih merah

Tujuan dari determinasi tanaman adalah untuk mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian berdasarkan dari ciri morfologi. Determinasi tanaman sirih merah dilakukan di Universitas Sebelas Maret berpedoman menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) dan Mangion, C.P. (2011). Hasil determinasi tanaman sirih merah sebagai berikut:

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-799b-800b-801b-802a-b03b-804b-805c-806b-807a-808c-809b-810b-811a-b12b-b15b-b16b-818b-820b-821b-822a-823b_____23. Piperaceae
1b- 2b-3b_____3. *Piper* 1_____ *Piper crocatum* Ruiz & Pav.

Hasil dapat dilihat di lampiran 1.

2. Pengumpulan tanaman dan pengeringan daun sirih merah

Daun sirih merah yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Juli 2019. Daun yang sudah dipanen kemudian dilakukan sortasi agar diperoleh daun sirih merah yang bersih, sehat dan seragam ukurannya, setelah itu dicuci untuk menghilangkan kotoran maupun kapang/khamir lalu ditiriskan. kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50⁰ C untuk mengurangi kadar air serta menjaga mutu tanaman agar terhindar dari jamur maupun mikroorganisme, pengeringan sangat penting karena dapat mempermudah proses grinding dan mempengaruhi kualitas serbuk daun sirih merah sebelum di ekstraksi. Hasil pengeringan daun simplisia diperoleh % rendemen sebesar 27,77 %.

Tabel 2. Rendemen daun kering terhadap daun basah

Bobot daun basah (g)	Bobot daun kering (g)	Rendemen (%) b/b
9000	2500	27,77

3. Hasil pembuatan serbuk daun sirih merah

Daun sirih merah yang sudah kering kemudian dihaluskan dan diayak dengan ayakan mesh 40. Hasil rendemen serbuk simplisia dapat dilihat di tabel 3.

Tabel 3. Rendemen daun kering terhadap serbuk

Bobot daun kering (g)	Bobot serbuk daun (g)	Rendemen (%) b/b
2500	2080	83,2

4. Hasil penetapan kelembapan serbuk daun sirih merah

Penetapan kelembapan serbuk daun sirih merah dilakukan menggunakan *moisture balance* pada suhu 105 °C dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil kelembapan serbuk daun sirih merah rata-rata sebesar 7,5 % sehingga memenuhi syarat kelembapan tidak lebih dari 10% (FHI 2010). Hasil penetapan kelembapan dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Penetapan kelembapan serbuk daun sirih merah

Bahan	Replikasi	Susut Pengerinan (%)	Rata-rata ± SD (%)
Serbuk daun sirih merah	1	7,5	7,5 ± 0
	2	7,5	
	3	7,5	

B. Ekstraksi

1. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun sirih merah

Serbuk daun sirih merah diekstraksi dengan metode remaserasi menggunakan pelarut etanol 96 % karena dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar dan non polar. Maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 45 °C. Hasil ekstrak kental 108,591 gram dengan rendemen sebesar 15% dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Rendemen ekstrak terhadap serbuk

Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%) b/b
700	108,591	15,513

2. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun sirih merah

Penetapan kadar air ekstrak daun sirih merah menggunakan *Sterling Bidwell* dengan pelarut toluen dilakukan sebanyak dua kali. Tujuan dilakukan penetapan kadar air ekstrak adalah untuk mengetahui jumlah kadar air pada ekstrak. Kadar air yang tinggi dapat mempengaruhi kualitas dan khasiat dari ekstrak daun sirih merah karena dapat terjadi reaksi enzimatis sehingga harus dijaga kadar airnya

sesuai dengan syarat minimum kadar air. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun rata-rata sebesar 9,125 % sehingga memenuhi syarat kadar air tidak lebih dari 10% (FHI 2010). Hasil penetapan kadar air dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Kadar air ekstrak daun sirih merah

Bahan	Replikasi	Kadar air (%)	Rata- rata (%)
Ekstrak daun sirih merah	1	9	9,125
	2	9,25	

3. Hasil identifikasi kandungan ekstrak daun sirih merah

Pemeriksaan kandungan kimia ekstrak dan serbuk daun sirih merah didapatkan hasil ekstrak dan serbuk daun sirih merah mengandung senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, saponin dan steroid. Hasil dapat dilihat pada tabel 7 dan lampiran 7.

Tabel 7. Hasil identifikasi senyawa kimia

Kandungan	Serbuk	Ekstrak	Hasil	Pustaka
Flavonoid	Terbentuk cincin kuning	Terbentuk cincin kuning	+	Warnida <i>et al</i> 2018
Tanin	Hitam kehijauan	Hitam kehijauan	+	Sangi <i>et al.</i> 2008
Alkaloid				
Dragendorff	Endapan jingga	Endapan jingga	+	Utami <i>et.al.</i> 2016
Mayer	Endapan kuning	Endapan kuning	+	Utami <i>et.al</i> 2016
Boucardat	Endapan hitam	Endapan hitam	+	Warnida <i>et al</i> 2018
Saponin	Terbentuk buih yang konstan	Terbentuk buih yang konstan	+	Utami <i>et. al.</i> 2016
Steroid	Hijau	hijau	+	Purwati <i>et.al.</i> 2017

Hasil identifikasi kandungan daun sirih merah ini sesuai dengan penelitian Fitriyani *et al* (2011) dimana pada ekstrak metanol daun sirih merah terdapat flavonoid, tannin, saponin, steroid, kemudian menurut Parfati & Windono (2016) daun sirih merah memiliki kandungan flavonoid, alkaloid dan minyak atsiri.

C. Uji Efek Antiinflamasi

Uji efek antiinflamasi ekstrak daun sirih merah dilakukan menggunakan metode induksi karagenan yang diberikan sebanyak 0,05 mL secara subplantar. Metode ini adalah salah satu metode pengujian aktivitas antiinflamasi yang mudah dan sering digunakan. Penggunaan karagenan sebagai penginduksi radang

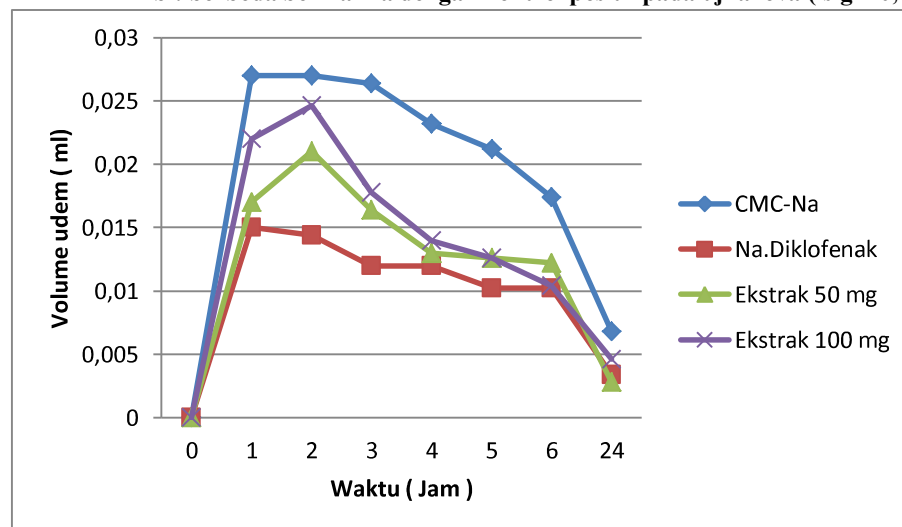
memiliki beberapa keuntungan antara lain tidak meninggalkan bekas, tidak menimbulkan kerusakan jaringan dan memberikan respon yang lebih peka terhadap obat antiinflamasi dibanding senyawa iritan lainnya (Siswanto & Nurulita, 2005). Pada penelitian ini digunakan 20 ekor tikus putih galur wistar yang terbagi dalam 4 kelompok yaitu kontrol negatif, kontrol positif, ekstrak dosis 50 mg/kg bb dan ekstrak dosis 100 mg/kg bb. Volume udem diukur sebelum dan sesudah dilakukan perlakuan menggunakan alat *pletysmometer*. Data yang diperoleh dalam penelitian ini berupa volume udem kaki tikus dari jam ke 1 sampai jam ke 24.

Tabel 8. Rata-rata Δt_n volume udem

Perlakuan	Rata-rata volume Δt_n udem \pm SD							
	Δt_0 (t_0-t_0)	Δt_1 (t_1-t_0)	Δt_2 (t_2-t_0)	Δt_3 (t_3-t_0)	Δt_4 (t_4-t_0)	Δt_5 (t_5-t_0)	Δt_6 (t_6-t_0)	Δt_{24} ($t_{24}-t_0$)
Kontrol negatif (CMC-Na)	0 \pm 0	0,027 \pm 0,004	0,027 \pm 0,003	0,026 \pm 0,002	0,023 \pm 0,005	0,021 \pm 0,004	0,017 \pm 0,004 ^b	0,007 \pm 0,003
Na.diklofenak dosis 4,5 mg/kg bb	0 \pm 0	0,015 \pm 0,007	0,014 \pm 0,006	0,012 \pm 0,008	0,012 \pm 0,008	0,010 \pm 0,006	0,010 \pm 0,006 ^a	0,003 \pm 0,003
Ekstrak dosis 50 mg/kg bb	0 \pm 0	0,017 \pm 0,003	0,021 \pm 0,004	0,016 \pm 0,004	0,013 \pm 0,003	0,013 \pm 0,003	0,012 \pm 0,003 ^a	0,003 \pm 0,003
Ekstrak dosis 100 mg/kg bb	0 \pm 0	0,022 \pm 0,006	0,025 \pm 0,007	0,018 \pm 0,005	0,014 \pm 0,004	0,013 \pm 0,003	0,010 \pm 0,003 ^a	0,005 \pm 0,003

keterangan : a : berbeda bermakna dengan kontrol negatif pada uji anova (sig < 0,05)

b : berbeda bermakna dengan kontrol positif pada uji anova (sig < 0,05)



Gambar 7. Hasil uji efek antiinflamasi

Kelompok kontrol negatif mengalami kenaikan volume udem paling tinggi pada 1 jam setelah induksi karagenan. Proses pembentukan udem terjadi karena karagen menginduksi cedera sel dengan dilepaskannya mediator yang mengawali proses inflamasi. Udem yang disebabkan induksi karagenan dapat bertahan selama 6 jam dan berangsur – angsur berkurang dalam waktu 24 jam, proses terjadinya udem diperkuat oleh mediator inflamasi terutama PGE1 dan PGE2 dengan cara menurunkan permeabilitas vaskuler. Apabila permeabilitas vaskuler turun maka protein-protein plasma dapat menuju ke jaringan yang luka sehingga terjadi udem (Corsini *et al.* 2005). Karagenan berperan dalam pembentukan udem dalam model inflamasi akut (Singh, 2008). Karagenan merupakan suatu zat asing (antigen) yang bila masuk ke dalam tubuh akan merangsang pelepasan mediator radang seperti histamin sehingga menimbulkan radang akibat antibodi tubuh bereaksi terhadap antigen tersebut untuk melawan pengaruhnya (Necas, 2013).

Induksi karagenan mengakibatkan terbentuknya radang yang terdiri dari dua fase, yaitu 1-2 jam setelah injeksi karagenan. Pada fase pertama terjadi pelepasan serotonin dan histamin ke tempat radang serta terjadi peningkatan sintesis prostaglandin pada jaringan yang rusak. Pada fase kedua terjadi pelepasan prostaglandin dan dimediasi oleh bradikinin dan leukotriene (Ravi, 2009 & Linnet, 2010). Pembentukan radang oleh λ -karagenan menghasilkan peradangan akut dan tidak menyebabkan kerusakan jaringan, meskipun radang dapat bertahan selama 6 jam dan berangsur-angsur berkurang setelah 24 jam. Responnya terhadap obat antiinflamasi lebih peka dibandingkan iritan lainnya (Juheini 1990).

Pada kelompok kontrol positif yang diberikan natrium diklofenak dosis 4,5 mg/kg bb peningkatan volume udem tidak setinggi dengan kontrol negatif dan ekstrak daun sirih merah lainnya tetapi mengalami penurunan signifikan pada jam ke-6 sampai jam ke-24. Kontrol positif natrium diklofenak bekerja dengan cara menghambat enzim cyclooxygenase-1 dan 2 (COX 1 & COX 2) sehingga menurunkan produksi prostaglandin (PGE2) dan prostasiklin (PGI2).

Kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sirih merah terjadi peningkatan dari jam ke-1 setelah diinduksi karagenan dan mulai turun pada jam ke-3. Daya

antiinflamasi daun sirih merah berasal dari kandungan kimianya yaitu flavonoid. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antiinflamasi dapat melalui beberapa jalur dengan penghambatan aktivitas siklooksigenase (COX) dan lipooksigenase, penghambatan akumulasi leukosit, penghambatan degranulasi neutrophil dan penghambatan histamin (Nijveltd *et al.* 2001). Selain itu, mekanisme flavonoid dalam menghambat terjadinya radang melalui dua cara yaitu menghambat asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dan endotelial sehingga terjadi proliferasi dan eksudasi dari proses radang. Terhambatnya pelepasan asam arakidonat dari sel inflamasi akan menyebabkan kurang tersedianya substrat arakidonat bagi jalur siklooksigenase dan jalur lipooksigenase (Robinson, 1995). Selain flavonoid senyawa bioaktif lain yang berpotensi sebagai antiinflamasi adalah saponin dan alkaloid. Mekanisme antiinflamasi saponin dengan menghambat pembentukan eksudat dan menghambat permeabilitas vaskular (Fitriyani *et al.*,2011). Sedangkan mekanisme alkaloid sebagai antiinflamasi yang memiliki kandungan utama pada daun seperti pikrinin, vallesamin, dan skolarisin secara *in vitro* dapat menghambat beberapa mediator inflamasi (COX-1, COX-2, dan 5-LOX) (Shang *et al.* 2010).

Berdasarkan hasil uji normalitas menggunakan *Shapiro-wilk* menunjukkan bahwa data volume udem jam ke-5, 6 dan 24 sudah terdistribusi normal dengan nilai ($p > 0,05$) kemudian dilakukan uji *One Way Anova*. Volume udema pada jam ke-5 dan 6 menunjukkan kelompok kontrol positif sebanding dengan kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sirih merah sedangkan pada jam ke-24 tidak diperoleh perbedaan yang bermakna antara semua kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa setelah jam ke-6 induksi radang dengan karagenan menurun dan volume udema setelah jam ke-6 sampai ke-24 daya antiinflamasi kontrol positif dan kelompok perlakuan ekstrak daun sirih merah mulai menurun sampai pada jam ke 24.

Hasil uji normalitas menggunakan *Shapiro-wilk* menunjukkan bahwa data dari rata-rata AUC antiinflamasi sudah terdistribusi normal dengan nilai ($p > 0,05$), hasil analisa *One Way Anova* menunjukkan perbedaan antara kontrol negatif dengan kontrol positif. Pada kelompok perlakuan juga terdapat perbedaan yang bermakna antara ekstrak daun sirih merah dengan kontrol negatif. Hal ini

membuktikan bahwa kelompok ekstrak daun sirih merah memiliki efek antiinflamasi.

Tabel 9. Rata-rata AUC dan rata-rata % DAI

Perlakuan	Rata – rata AUC \pm SD	Rata – rata % DAI \pm SD
Kontrol negatif (CMC-Na)	0,3513 \pm 0,066 ^b	0 \pm 0
Natrium Diklofenak	0,1911 \pm 0,115 ^a	42 \pm 0,384
Ekstrak 50 mg /kg bb	0,2087 \pm 0,086 ^a	35 \pm 0,388
Ekstrak 100 mg/kg bb	0,231 \pm 0,061152 ^a	32 \pm 0,230886

keterangan : a : berbeda bermakna dengan kontrol negatif pada uji anova (sig < 0,05)

b : berbeda bermakna dengan kontrol positif pada uji anova (sig < 0,05)

Hasil persentase daya antiinflamasi menunjukkan bahwa persen daya antiinflamasi natrium diklofenak sebesar 42 % paling tinggi dibandingkan dengan kelompok ekstrak daun sirih merah dosis 50 mg/kg bb yaitu 35 % dan kelompok ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kg bb yaitu 32 %. Hal ini membuktikan bahwa natrium diklofenak sebagai obat antiinflamasi memiliki khasiat lebih baik dari ekstrak daun sirih merah dan ekstrak daun sisih merah dosis 50 mg/ kg bb merupakan dosis efektif sebagai antiinflamasi karena sudah dapat memberikan efek terapi pada dosis kecil.

Pada ekstrak daun sirih merah dosis 50 mg/kg bb memiliki persen daya antiinflamasi lebih besar dari dosis 100 mg/kg bb. Faktor yang menjadi penyebab adalah pada dosis ekstrak daun sirih merah 100 mg/kg bb mempunyai kandungan senyawa kimia yang lebih banyak dari dosis 50 mg/kg bb sehingga memiliki aktifitas yang dapat bersifat antagonis terhadap aktifitasnya sebagai antiinflamasi. Menurut Rinayanti *et al* (2014) obat herbal dalam dosis tinggi diketahui dapat menyebabkan pelepasan histamine secara langsung dari sel mast sehingga mengakibatkan pembuluh darah menjadi lebih permeabel terhadap cairan plasma dan menimbulkan proses peradangan. Hal ini yang diduga mempengaruhi aktifitas antiinflamasi ekstrak etanol daun sirih merah dosis 100 mg/kg bb.

Pada penelitian Fitriyani *et al* (2011) persen daya antiinflamsi ekstrak etanol daun sirih merah lebih besar dibandingkan penelitian ini hal ini dapat terjadi karena perbedaan lokasi pengambilan sampel tanaman daun sirih merah sehingga mempengaruhi kandungan senyawa kimia dalam tanaman.

D. Uji Keamanan Lambung

1. Hasil uji makroskopis keamanan lambung

Pada pengamatan makroskopis lambung tikus kelompok ekstrak daun sirih merah baik pada dosis 50 mg/kg bb dan 100 mg/ kg bb menunjukkan lambung tikus dalam keadaan baik tidak terdapat tukak atau bintik kemerahan dan lambung berwarna merah segar dapat dilihat pada lampiran 5 dan skor tukak pada tabel 10. Sedangkan pada pemberian natrium diklofenak diperoleh tukak dan bintik kemerahan yang menandakan adanya iritasi lambung pada permukaan lambung tikus. Hasil pengamatan makroskopis diperoleh skor 6 untuk kontrol positif natrium diklofenak dikarenakan efek samping dari NSAID yang dapat menyebabkan iritasi lokal pada lambung.

Tabel 10. Hasil uji makroskopis lambung

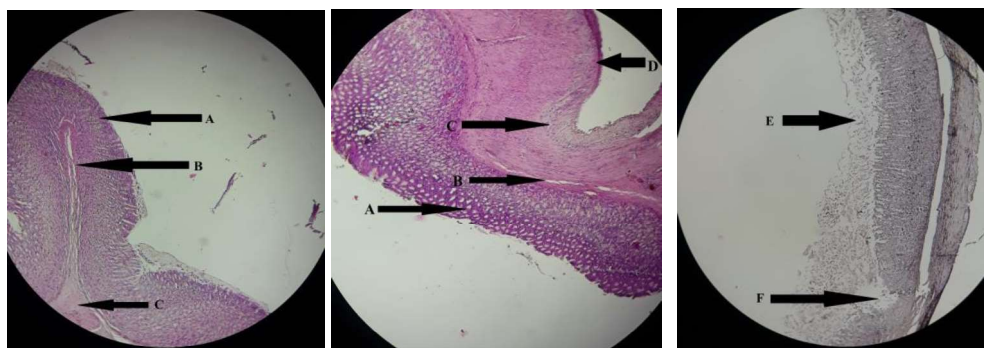
Poin tukak			
CMC	skor tukak A	skor keparahan B	A + B
1	1	1	2
2	1	1	2
3	1	1	2
rata-rata ± SD	1 ± 0	1 ± 0	2 ± 0
Na. Diclo	skor tukak A	skor keparahan B	A + B
1	6	6	12
2	2	2	4
3	1	1	2
rata – rata ± SD	3 ± 2,646	3 ± 2,646	6 ± 4,320
ekstrak 50 mg	skor tukak A	skor keparahan B	A + B
1	1	1	2
2	1	1	2
3	1	1	2
rata – rata ± SD	1 ± 0	1 ± 0	2 ± 0
ekstrak 100 mg	skor tukak A	skor keparahan B	A + B
1	1	1	2
2	1	1	2
3	1	1	2
rata – rata ± SD	1 ± 0	1 ± 0	2 ± 0
Normal	skor tukak A	skor keparahan B	A + B
1	1	1	2
2	1	1	2
3	1	1	2
rata – rata ± SD	1 ± 0	1 ± 0	2 ± 0

Obat antiinflamasi non steroid (OAINS) bekerja dengan cara menghambat enzim siklooksigenase (COX) yang berperan pada biosintesis prostaglandin yang merupakan mediator atau substansi radang yang memperkuat efek nyeri dan demam pada saat terjadinya inflamasi (Ricciotti & FitzGerald, 2011). Terdapat

dua isoform enzim siklooksigenase di dalam tubuh manusia, yaitu enzim COX-1 dan COX-2, dimana kedua enzim ini terlibat pada respon inflamasi. Penghambatan enzim COX-1 dalam keping darah dan jaringan epitel lambung oleh OAINS dapat menyebabkan kerusakan lambung, gangguan saluran cerna, kerusakan pada ginjal, dan gangguan kardiovaskuler (Haghighi *et al.* 2005).

Mekanisme kerja natrium diklofenak yang menghambat enzim COX-1 dan 2 dimana COX-1 berperan dalam melindungi mukosa lambung. Pada NSAID COX-1 ikut di hambat sehingga tidak ada enzim yang berperan untuk melindungi mukosa lambung. Hal ini yang menyebabkan terjadinya bintik kemerahan iritasi lambung sampai tukak pada hewan uji. Sedangkan pada perlakuan ekstrak etanol daun sirih merah memiliki nilai skor tukak sesuai dengan kelompok CMC dan normal dimana tidak ditemukan adanya bintik kemerahan dan tukak lambung pada permukaan lambung dilihat dari makroskopis. Dimana pada kelompok perlakuan CMC lambung tikus berwarna merah segar dan pada permukaan tidak terdapat bintik kemerahan ataupun tukak lambung. Hal ini karena pada kelompok CMC tidak terjadi mekanisme penghambatan enzim COX yang berfungsi untuk menghasilkan prostaglandin yang dapat menjaga tingkat keasaman lambung sehingga lambung tidak rusak oleh kadar asam lambung yang meningkat. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak daun sirih merah sebagai antiinflamasi tidak memberikan efek samping pada lambung hewan uji.

2. Hasil pengamatan mikroskopis lambung tikus



Kelompok CMC

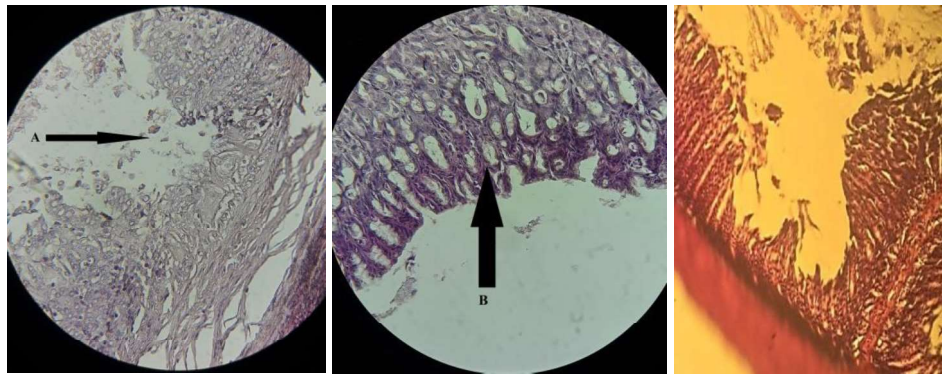
Ekstrak 100 mg/kg bb

Natrium Diklofenak

Gambar 8. Pemeriksaan mikroskopis lambung tikus perbesaran 10 kali

Keterangan : mukosa lambung (A), sub mukosa (B), muskularis (C), serosa (D), nekrosis (E) dan erosis (F).

Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis kelompok natrium diklofenak menunjukkan adanya bintik kemerahan dan tukak lambung sehingga ketika dilakukan pengamatan mikroskopis lambung pada perbesaran 10 kali terlihat kelompok natrium diklofenak pada lapisan mukosa terdapat nekrosis sel dan beberapa sel lisis tidak seperti kelompok normal yang lapisan sel mukosa lambungnya masih rapat.



Kelompok Na. diklofenak

Kelompok Normal

Asam mefenamat (Shafira et al 2016)

Gambar 9. Lambung tikus kelompok Na. Diklofenak & Normal perbesaran 40 kali
Keterangan : erosis sel (A), dan sel normal (B).

Pada perbesaran 40 kali terdapat jaringan yang mengalami erosi pada lapisan mukosa lambung. Hal ini dapat terjadi karena natrium diklofenak yang termasuk dalam obat golongan NSAID menghambat enzim COX non-selektif sehingga konversi asam arakidonat menjadi PGG₂ terganggu. Di mukosa lambung, aktivasi COX-1 menghasilkan prostasiklin yang bersifat sitoprotektif (Wilmana F & Gan S 2012). Pada penelitian Shafira *et al* (2016) tentang gambaran histopatologik lambung tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi asam mefenamat dan diberi susu kental manis juga menunjukkan adanya erosi epitel pada permukaan mukosa dan sel-sel radang pada pemberian asam mefenamat. Hal ini menunjukkan bahwa obat golongan NSAID memiliki efek samping berupa tukak lambung.

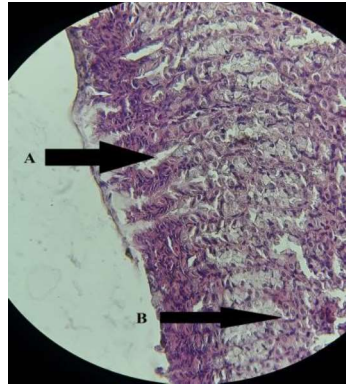
Natrium diklofenak yang menghambat enzim siklooksigenase yang akan mengganggu proses terbentuknya prostaglandin ini yang menyebabkan terjadinya

tukak dan erosi pada lambung tikus, Hal ini dapat dilihat pada pengamatan makroskopis maupun mikroskopis gambar 9 dan lampiran 12. Penghambatan sintesis prostaglandin ini menyebabkan peningkatan sekresi asam lambung yang kemudian menyebabkan erosi pada dinding mukosa lambung. Asam memicu pengeluaran histamin, suatu stimulan asam kuat yang diproduksi dan disimpan dalam jumlah besar di mukosa. Histamin yang dikeluarkan tersebut merangsang sekresi lebih banyak asam, yang dapat berdifusi kembali ke mukosa untuk merangsang pengeluaran histamin lebih lanjut sehingga memicu pengeluaran lebih banyak asam, erosi mukosa atau ulkus yang semakin luas di bawah pengaruh asam dan pepsin yang kadarnya meningkat. Dua konsekuensi paling serius adanya ulkus adalah (1) perdarahan akibat kerusakan kapiler submukosa dan (2) perforasi dinding lambung akibat erosi total menembus dinding yang disebabkan oleh kerja HCl dan pepsin (Sherwood, 1996).

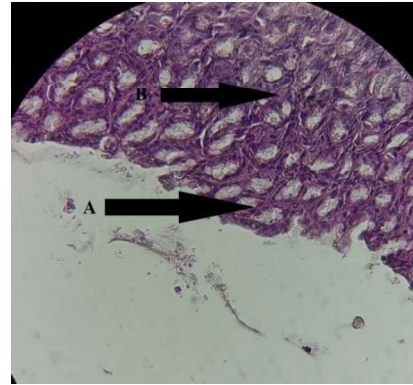
Perbesaran 40 kali pada kelompok natrium diklofenak menunjukkan adanya nekrosis sel atau kematian sel pada lapisan mukosa lambung tikus. Nekrosis merupakan proses kematian sel yang masih menjadi bagian dari organisme hidup dengan penyebab yang bervariasi. Nekrosis dapat terjadi akibat bahan beracun, aktivitas mikroorganisme, defisiensi pakan, dan gangguan metabolisme. Nekrosis ditandai dengan bengkaknya sel karena upaya membran plasma mengatur lesi mekanisme keluar masuknya ion dan air. Nekrosis melibatkan sekelompok besar sel dalam jaringan dan menghasilkan molekul-molekul pra peradangan sehingga akan diinfiltrasi oleh sel-sel radang. Sitoplasma dari sel nekrosis akan terlihat lebih asidofilik (merah) yang disebabkan denaturasi protein sitoplasma dan kerusakan lisosom. Setelah terjadi nekrosis selanjutnya pada sel kromatin inti menggumpal, inti mengecil dan berwarna biru yang dikenal dengan proses piknosis (Javad, 2007; Tommy, 2014).

Inti piknosis dapat pecah menjadi bagian-bagian kecil (karioreksis) atau menghilang (kariolisis). Nekrosis dapat disebabkan oleh bermacam-macam agen etiologi dan dapat menyebabkan kematian dalam beberapa hari. Agen penyebabnya yaitu racun kuat (seperti fosfor, jamur beracun, dan lainnya),

gangguan metabolik (biasanya pada metabolisme protein), infeksi virus yang menyebabkan bentuk fluminan atau maligna virus (Atchariya et al., 2014).



Dosis 50 mg/kg bb perbesaran 40 x



Dosis 100 mg/kg bb perbesaran 40 x

Gambar 10. Lambung tikus kelompok ekstrak daun sirih merah.

Keterangan : sub mukosa (A), dan sel normal (B).

Pada pengamatan mikroskopis kelompok ekstrak daun sirih merah perbesaran 10 dan 40 kali sel di permukaan mukosa lambung masih rapat dan tidak ditemukan lisis atau erosi hal ini sama dengan kelompok normal dan CMC. Efek antiinflamasi daun sirih merah berasal dari hasil metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antiinflamasi salah satunya adalah flavonoid yang bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase dan lipooksigenase. Flavonoid mampu melindungi membran lipida terhadap reduksi yang bersifat merusak (Robinson, 1995).

Kandungan senyawa daun sirih merah yaitu flavonoid, tanin, polifenol mempunyai khasiat sebagai antioksidan. Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzimatis maupun non enzimatis. Flavonoid bertindak sebagai penampung radikal hidroksi dan superoksida yang baik dengan demikian dapat melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak (Tonahi *et al* 2014).

Kandungan flavonoid dan saponin memiliki efek anti-inflamasi yang akan meningkatkan produksi mukus pada lambung. Flavonoid juga meningkatkan kandungan prostaglandin mukosa, menurunkan sekresi histamin dari sel mast oleh

penghambatan *histidine decarboxylase*, dan juga sebagai *radical scavengers* (Borrelli dan Angelo, 2000). Mekanisme antioksidan flavonoid selain menangkap radikal bebas adalah mengikat ion logam transisi, inhibisi enzim oksidan/produksi radikal bebas oleh sel, dan regenerasi *α-tokoferol* dari radikal *α-tokoferoksil* (La Casa *et al.*, 2000).

Selain flavonoid ada juga kandungan tanin pada ekstrak daun sirih merah. Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai adsringent, anti diare, anti bakteri dan antioksidan (Tonahi *et al* 2014). Adsringent merupakan sifat dari suatu zat yang menyebabkan terbentuknya presipitasi protein pada permukaan sel (Salawu, *et al.*, 2009), sehingga akan melapisi permukaan sel-sel lambung dan mempertahankan lapisan mukosa terhadap kerja enzim-enzim proteolitik. Tanin menurunkan permeabilitas lapisan permukaan luar mukosa dan meningkatkan pertahanan terhadap infeksi bakteri, iritasi bahan kimia, khususnya iritasi mekanik (Borrelli dan Angelo, 2000).

Penggunaan ekstrak daun sirih merah dosis 50 mg/kg bb dan 100 mg/kg bb terbukti lebih aman pada lambung dibandingkan dengan natrium diklofenak dosis 4,5mg/kg bb hal ini dapat dilihat dari pengamatan makroskopis maupun mikroskopis dimana tidak terdapat bintik kemerahan, tukak, nekrosis dan erosi sel pada lambung tikus yang diberikan ekstrak daun sirih merah. Hal ini membuktikan bahwa penggunaan ekstrak daun sirih merah lebih aman pada lambung dibandingkan dengan natrium diklofenak dalam khasiatnya sebagai antiinflamasi.