



Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Malaka (*Phyllanthus emblica*) Terhadap Differensial Leukosit Pada Mencit Jantan

Nuzul Asmilia*, Amalia Sutriana, Mentari Azhari L

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh, Indonesia

INFO ARTIKEL

*Penulis koresponden
email: nuzulasmilia@unsyiah.ac.id

Kata kunci:
ekstrak etanol daun malaka,
inflamasi,
leukosit

Keywords:
ethanol extract from malacca leaves,
inflammation,
leukocytes

ABSTRAK

Tanaman malaka adalah salah satu tanaman obat yang mempunyai khasiat sebagai antiinflamasi. Aktivitas antiinflamasi dalam tubuh hewan dapat dinilai berdasarkan beberapa parameter salah satunya adalah menghitung jumlah differensial sel leukosit. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek ekstrak etanol daun malaka (*Phyllanthus emblica*) terhadap differensial leukosit pada mencit jantan yang diinduksi karagenan. Penelitian ini menggunakan 20 ekor mencit yang dibagi dalam 5 kelompok perlakuan dengan 4 ekor mencit perkelompok perlakuan. Semua mencit diinduksi inflamasi dengan menggunakan karagenan dengan dosis 1%. Mencit pada kelompok 1 (kontrol negatif) tidak diberi ekstrak etanol daun malaka dan suspensi piroxicam. Kelompok 2 (kontrol positif) diberikan piroxicam 20 mg. Kelompok 3, 4, dan 5 diberikan ekstrak etanol daun malaka masing-masing dengan dosis 100 mg/kgbb, 200 mg/kgbb dan 300 mg/kgbb. Pengambilan darah dilakukan pada hari ke-5 setelah perlakuan. Data dianalisis dengan menggunakan analisis varians (ANOVA) pola satu arah menggunakan program SPSS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata ($\pm$ SD) jumlah granulosit pada K1, K2, K3, K4, dan K5 adalah $40,00 \pm 13,29\%$; $44,74 \pm 7,32\%$; $35,5 \pm 11,9\%$; $50,00 \pm 10,09\%$ dan $38,75 \pm 20,53\%$. Rata-rata sel monosit pada K1, K2, K3, K4 dan K5 adalah $14,25 \pm 6,44\%$; $14,50 \pm 9,71\%$; $5,25 \pm 3,30\%$; $5,25 \pm 2,5\%$ dan $12,75 \pm 4,34\%$. Sementara rata-rata sel limfosit pada K1, K2, K3, K4 dan K5 adalah $45,75 \pm 17,68\%$; $40,75 \pm 12,03\%$; $59,25 \pm 10,11\%$; $44,75 \pm 9,94\%$ dan $48,5 \pm 16,8\%$. Analisis statistik menunjukkan bahwa differensial sel leukosit diantara semua kelompok tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun malaka pada mencit yang diinduksikan inflamasi dengan karagenan tidak mempengaruhi jumlah differensial leukosit.

ABSTRACT

Malacca plant is one of medicinal plant which has been known having antiinflammatory activity. Antiinflammatory activity in animal could be estimated base on several parameters such as differential leukocyte count. The purpose of this study was to determine the effect of ethanolic extract of malacca leaves (*Phyllanthus emblica*) on the number of differential leukocyte in the carrageenan-induced inflammation in male mice. This study used 20 mice which were divided into 5 groups with 4 mice per group. All the mice were induced inflammation using carrageenan at dose of 1%. Mice in group 1 (negative control) were not given ethanol extract of malacca leaves and piroxicam suspension. Mice in group 2 (positive control) were treated with 20 mg piroxicam suspension. Mice in groups 3, 4, and 5 were given ethanol extract of malacca leaves at doses of 100 mg/kgbb, 200 mg/kgbb and 300 mg/kgbb, respectively. Blood collection was carried out on the 5th day post treatment. Data were analysed using one way Analysis of Variance (ANOVA) using SPSS program. The results showed that the average number of granulocyte cell in K1, K2, K3, K4 and K5 were, $40,00 \pm 13,29\%$; $44,74 \pm 7,32\%$; $35,5 \pm 11,9\%$; $50 \pm 10,09\%$ and $38,75 \pm 20,53\%$ respectively. The average monocyte cell in K1, K2, K3, K4 and K5 were, $14,25 \pm 6,44\%$; $14,5 \pm 9,71\%$; $5,25 \pm 3,30\%$; $5,25 \pm 2,5\%$ and $12,75 \pm 4,34\%$ respectively. While the average lymphocyte cell in K1, K2, K3, K4 and K5 were, $45,75 \pm 17,68\%$; $40,75 \pm 12,03\%$; $59,25 \pm 10,11\%$; $44,75 \pm 9,94\%$ and $48,5 \pm 16,8\%$, respectively. Statistically analysis showed that the differential leukocyte were not significantly different ($P > 0.05$) among treatments. It was concluded that the administration of malacca leaves in carrageenan induced inflammation in male mice did not affect the differential leukocytes.

1. PENDAHULUAN

Tanaman obat dapat diperoleh dari tumbuhan liar dan juga tumbuhan yang dapat dibudidayakan. Salah satunya adalah tanaman malaka yang banyak khasiatnya (Baliga dan Dsouza, 2011). Di daerah Aceh, khususnya di Kabupaten Aceh Besar telah lama diketahui ada jenis tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional, yaitu tanaman malaka. Tanaman malaka memiliki banyak khasiat, diantaranya sebagai analgesik, hepatoprotektif, antipiretik, antiinflamasi, antikanker, antihiperlipidemia, antidiare dan untuk mengobati diabetes (Kaur *et al.*, 2013).

Afrizal (2015), melaporkan bahwa daun malaka mengandung senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid. Flavonoid bermanfaat bagi kesehatan manusia, termasuk antioksidan, antiproliferasi, antikarsinogenik, antibakteri, antialergi, dan antivirus (Engida *et al.*, 2013). Manfaat flavonoid yang lainnya adalah melindungi struktur sel, memiliki hubungan sinergis dengan vitamin C, mencegah keropos tulang, sebagai antibiotik, dan antiinflamasi (Alam dan Waluyo, 2006).

Inflamasi merupakan salah satu respon pertama dari sistem imun terhadap infeksi. Inflamasi dapat disebabkan masuknya suatu benda asing ke dalam tubuh, invasi dari kuman, trauma fisik, bahan kimia dan faktor alergi. Inflamasi juga memiliki efek yang juga menguntungkan, seperti netralisasi dan pembuangan agen penyerang, menghancurkan jaringan nekrosis, serta membuat keadaan yang dibutuhkan untuk penyembuhan. Terjadinya inflamasi dapat meliputi kerusakan mikrovaskular, meningkatnya permeabilitas kapiler, dan terjadinya migrasi leukosit ke jaringan yang mengalami inflamasi (Meilawaty, 2011). Inflamasi juga merupakan respon protektif yang ditimbulkan oleh kerusakan pada suatu jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia yang merusak atau zat mikrobiologik. Fungsi dari inflamasi yaitu untuk menghancurkan, mengurangi, atau melokalisasi agen yang merusak maupun jaringan yang rusak. Terjadinya inflamasi ditandai adanya pembengkakan/ edema, kemerahan, panas, nyeri dan perubahan fungsi (Ramadhani dan Sumiwi, 2016). Ketika terjadinya inflamasi akut dan tidak diobati, inflamasi ini dapat sembuh sendiri dengan ditandai berkurang atau hilangnya volume edema pada area inflamasi. Biasanya pada saat inflamasi terjadi peningkatan jumlah sel leukosit di darah terutama sel fagosit. Peningkatan ini bertujuan untuk meningkatkan proses pencernaan atau fagositosis sel-sel yang telah rusak dan agen-agen penyerang yang dapat merusak sel selanjutnya (Aria *et al.*, 2015).

Inflamasi dapat diinduksikan dengan menggunakan karagenan. Karagenan merupakan suatu mukopolisakarida yang diperoleh dari rumput laut merah Irlandia (*Chondrus crispus*) yang memiliki peranan dalam pembentukan edema dalam model inflamasi akut. Karagenan tersebut merupakan zat asing

(antigen) yang bila masuk kedalam tubuh akan merangsang pelepasan mediator seperti histamin sehingga dapat menimbulkan radang akibat antibodi tubuh bereaksi terhadap antigen untuk melawan pengaruhnya (Necas, 2013).

Mekanisme antiinflamasi yang dilakukan oleh senyawa flavonoid yang berasal dari tanaman tradisional dapat melalui beberapa jalur yaitu menghambat aktivitas enzim siklooksigenase (COX) dan lipooksigenase secara langsung yang menyebabkan penghambatan biosintesis prostaglandin dan leukotrien yang merupakan produk akhir dari jalur COX dan lipooksigenase. Ini dapat menjadi penghambat dari akumulasi leukosit dan degranulasi neutrofil sehingga secara langsung mengurangi pelepasan asam arakidonat oleh neutrofil, serta menghambat pelepasan histamin (Nijveldt *et al.*, 2001; Shah *et al.*, 2011).

Aktivitas antiinflamasi itu dapat dinilai dari penurunan hasil volume eksudat setelah perlakuan, namun dapat pula dilihat parameter penunjang lainnya seperti penghitungan jumlah sel leukosit, karena jika inflamasi berkurang maka jumlah sel leukosit yang bermigrasi ke daerah radang juga akan berkurang (Aria *et al.*, 2015). Sejauh ini, informasi tentang aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun malaka terhadap penurunan jumlah leukosit mencit jantan belum tersedia, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak etanol daun malaka terhadap jumlah leukosit mencit jantan yang diinduksi inflamasi dengan menggunakan karagenan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek ekstrak etanol daun malaka (*Phyllanthus emblica*) terhadap jumlah sel leukosit pada mencit jantan yang diinduksi inflamasi dengan menggunakan karagenan yang mengalami inflamasi setelah diinduksi dengan karagenan.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang terdiri dari 5 kelompok perlakuan dan 5 kali ulangan.

Sampel penelitian

Pemberian sediaan uji

Pemberian ekstrak uji dilakukan secara peroral sebanyak 1% dari BB mencit, segera setelah pemberian karagenan 1% dalam NaCl fisiologis sebanyak 0,1 ml secara subkutan. Sediaan diberikan selama 4 hari pada masing-masing kelompok. Mencit pada K1 (kontrol negatif), diberikan larutan NaCl fisiologis sebanyak 0,5%. Mencit pada K2 (kontrol positif) diberikan piroxicam 20 mg. Mencit pada K3, K4, dan K5 diberikan ekstrak etanol daun malaka masing-masing dengan dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 300 mg/kg BB.

Pembuatan preparat darah apus

Darah diambil dari vena ekor (*vena caudalis*) dan dibuat preparat ulas darah tipis. Darah diteteskan pada *object glass* dan diratakan dengan *object glass* lain, sehingga diperoleh lapisan darah yang homogen lalu dikeringkan. Setelah kering, masing-masing preparat dilakukan pewarnaan dengan cara mencelupkan preparat darah apus kedalam larutan fiksatif (alkohol) selama 5 detik 5 kali celup masing-masing satu detik. Dilanjutkan dengan mencelupkan sediaan ke dalam larutan I (metanol) selama 5 detik 5 kali celup masing-masing satu detik. Setelah itu, dicelupkan kedalam larutan II (giemsa) selama 5 detik 5 kali celup masing-masing satu detik. Selanjutnya preparat tersebut dicelupkan juga kedalam air selama 5 detik 5 kali celup masing-masing satu detik. Preparat dikeringkan dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x menggunakan minyak emersi.

Analisis Data

Data hasil penelitian di analisis menggunakan analisis varians (ANOVA) pola satu arah dan dilanjutkan dengan uji *Duncan* menggunakan program SPSS...

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Diferensial leukosit merupakan pengelompokkan leukosit berdasarkan ukuran sel, warna granula dan jumlah gelambir inti yang terlihat pada preparat apus darah. Nilai relatif leukosit diperoleh dari hasil perhitungan dan pengamatan pada preparat apus darah dan besarnya nilai relatif. Dalam sistem pertahanan tubuh, leukosit adalah unit yang paling aktif karena berperan dalam melawan berbagai penyakit infeksius dan non infeksius (Guyton, 2008 dan Malole dan Pramono, 1989), sekaligus merusak bahan-bahan infeksius dan toksik melalui proses fagositosis (dilakukan oleh makrofag dan neutrofil dan membentuk antibodi (Guyton, 2008)

Sel leukosit yang diamati dalam penelitian ini meliputi granulosit monosit dan limfosit. Akan tetapi dalam preparat apus darah, sel neutrofil, eosinofil, dan basophi tidak begitu jelas perbedaannya di bawah mikroskop, oleh karena itu ketiga sel ini dikelompokkan dalam 1 kelompok.

Efek antiinflamasi ekstrak etanol daun malaka (*Phyllanthus emblica*) terhadap jumlah sel leukosit mencit jantan yang diinduksi dengan karagenan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil penghitungan jumlah sel leukosit pada mencit jantan yang diberi ekstrak etanol daun malaka dengan dosis yang berbeda

Jenis leukosit (/100 sel Leukosit)	Kelompok 1 (K1)	Kelompok 2 (K2)	Kelompok 3 (K3)	Kelompok 4 (K4)	Kelompok 5 (K5)
Granulosit	14,20±7,96	14,86±10,07	10,93±7,34	16,33±10,24	12,20±8,37
Monosit(%)	13,2±6,05	16±9,05	11,2±13,60	6,4±3,36	23±4,43
Limfosit(%)	44,2±15,70	39,4±10,85	55,6±11,97	44,8±8,61	49,6±14,80

Keterangan: K1: tidak diberikan ekstrak etanol daun malaka, K2: diberikan piroxicam 20 mg, K3, K4, K5: diberikan ekstrak etanol daun malaka dengan dosis 200, 300 dan 400 mg/kg BB.

Berdasarkan tabel diatas, jumlah sel leukosit pada mencit jantan yang diberikan ekstrak etanol daun malaka (*Phyllanthus emblica*) dengan dosis yang berbeda adalah bervariasi dan tidak menunjukkan kecenderungan tertentu. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa jumlah sel leukosit pada kelima kelompok mencit jantan tidak berbeda nyata ($P>0,05$). Jumlah sel leukosit dalam penelitian ini masih berada dalam kisaran normal darah mencit menurut Hawkey (1975), kecuali jumlah sel basophil dan monosit.

Afrizal (2015), melaporkan bahwa daun malaka mengandung senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid. Senyawa flavonoid dalam ekstrak tumbuhan memiliki aktifitas antiinflamasi (Alam dan Waluyo, 2006) melalui kemampuannya menghambat dan mengurangi volume edema pada daerah radang dan mempengaruhi migrasi serta jumlah sel leukosit pada darah dan eksudat. Pada penelitian ini diketahui bahwa pemberian ekstrak etanol daun malaka tidak mempengaruhi jumlah sel leukosit dalam darah

mencit yang diinduksi inflamasi dengan menggunakan karagenan.

Hasil ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa ekstrak daun piladang mampu menurunkan jumlah sel neutrophil dan meningkatkan jumlah sel limfosit dan monosit dalam darah mencit yang diinduksi inflamasi dengan menggunakan karagenan (Aria *et al.*, 2015). Akan tetapi dalam penelitian yang dilakukan oleh Ifora *et al.*, (2017) menunjukkan bahwa pemberian krim ekstrak etanol daun kirinyuh meningkatkan sel neutrophil, monosit dan limfosit, serta menurunkan sel eosinophil. Perbedaan hasil pada penelitian ini dan penelitian-penelitian sebelumnya tidak dapat dijelaskan. Jumlah leukosit dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu umur, jenis kelamin, penyakit, pemberian pakan, estrogen, dan obat-obatan (Guyton, 2008). Disamping itu, efek subjektivitas dalam identifikasi sel-sel leukosit ini juga berkontribusi terhadap perbedaan hasil penelitian.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun malaka pada mencit jantan yang diinduksi inflamasi menggunakan karagenan tidak mempengaruhi jumlah rata-rata granulosit, monosit dan limfosit dalam darah mencit.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrizal, F. 2015. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun malaka (*Phyllanthus emblica*) terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Enterococcus faecalis*. Skripsi. FKH Unsyiah, Banda Aceh.
- Alam, S. dan Waluyo, S. 2006. *Sarang Semut Primadona Baru dari Papua*. Majalah Nirmala. Edisi 2006. Gramedia, Jakarta.
- Aria, M., Verawati., Arel, A. dan Monika. 2015. Uji efek antiinflamasi fraksi daun piladang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) terhadap mencit putih betina. *Scientia*, 5(2): 84-91.
- Baliga, M.S. and J.J. Dsouza. 2011. Amla (*emblica officinalis* gaertn), a wonder berry in the treatment and prevention of cancer. *Eur. J. Cancer Prev.* 20(3):225-239.
- Engida, A.M., Kasim, N.S., Tsigie, Y.A., Ismadji, S. Huynh, L.H. and Ju, L.H. 2013. Extraction, identification and quantitative HPLC analysis of flavonoids from sarang semut (*Myrmecodia pedens*). *Industrial Crops and Products*, 4(1): 392-396.
- Guyton, A.C. dan Hall, J.E. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 11. EGC, Jakarta.
- Hawkey, C.M. 1975. *Comparative Mammalian Haematology*. William Heinemann Medical Books LTD, London.
- Ifora., Arifin, H. dan Silvia, R. 2017. Efek antiinflamasi ekstrak etanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L) R. M. King & H. Rob) secara topikal dan penentuan jumlah sel leukosit pada mencit putih jantan. *Jurnal farmasi Higea*, 9(1): 68-76.
- Kaur, J., Kaur, D., Singh, H. and Khan, M. U. 2013. *Emblica officinalis*: a meritocratic drug for treating various disorders. *Indo American J. Pharm. Res.*, 3(6): 4477-4496.
- Malole, M.B. and Pramono, C.S.V. 1989. *Penggunaan hewan Hewan Percobaan di Laboratorium Departemen pendidikan dan Kebudayaan Pusat Antar Universitas Bioteknologi*. IPB, Bogor.
- Meilawaty, Z. 2011. Jumlah limfosit pada model inflamasi setelah pemberian ekstrak getah biduri (*Calotropis gigantea*). *Stomatognathic*, 8 (3): 131-136.
- Necas, J. and Bortosikova, L. 2013. Carrageenan: a review. *Veterinari Medicina*, 58(4):187-205.
- Nijveldt, R.J., Nood, E.V., Hoorn, D.E.C., Boelens, P.G., Norren, K.V. dan Leeuwen, P.A.M. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential application. *American Journal of Clinical Nutrition*, 7(4): 418-425.
- Ramadhani, N. dan Sumiwi, S.A. 2016. Aktivitas antiinflamasi berbagai tanaman diduga berasal dari flavonoid. *Farmaka*, 14(2): 111-123.
- Shah, B. N., Seth, K. dan Mheswari, K.M. 2011. A review on medical plants as source of anti-inflammatory agents. *J. Res. Medical Plants*, 5(2): 101-111.