

Aktivitas Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urb.)

Marita Kaniawati^{1*}, Yani Mulyani¹, Erna Kurniasih¹

¹Program Studi Farmasi, Universitas Bhakti Kencana, Bandung, Indonesia

*Corresponding author: marita.kaniawati@bku.ac.id

Abstract

Background: Obesity is correlated with serious health problems such as stroke, heart and vascular disease, and malignancy. One of the triggers for obesity is high fat and high carbohydrates foods which increase Free Fatty Acid (FFA) and Reactive Oxygen Species (ROS), which trigger oxidative stress and chronic inflammation, which play a role in various degenerative diseases. **Objective:** This research wants to explore the potential and determine the effective dose of a combination of ethanol extract of turmeric rhizome (*Curcuma domestica* Val.) and gotu kola leaves (*Centella asiatica* (L) Urb.) on inflammation (represented by Tumor Necrosis Factor Alpha or TNF- α levels). **Methods:** This research used an *in vivo* experimental preventive method using 35 mice which were divided into normal group, induction group, comparison group curcumin 1.8 mg/kgBW, test group 1 ERK 200 mg/kgBW, test group 2 EDP 200 mg/kgBW, test group 3 ERKDP 200 : 100 mg/kgBW and test group 4 ERKDP 100 : 200 mg/kgBW. TNF- α levels were measured using an ELISA kit on the 60th day. **Results:** The study revealed a decrease in TNF- α levels in all test groups namely ERK 200 mg/kg BW, EDP 200 mg/kgBW, and the combination of ERKDP dose 200 : 100 mg/kgBW. **Conclusion:** The combination of ERKDP dose 200 : 100 mg/kgBW is the most effective in suppressing TNF- α levels in mice.

Keywords: *Centella asiatica* (L.) Urb., *Curcuma domestica* Val., inflammation, obesity, Tumor Necrosis Factor Alpha

Abstrak

Pendahuluan: Obesitas berkorelasi dengan masalah kesehatan serius seperti stroke, penyakit kardiovaskular, dan kanker. Salah satu pemicu obesitas adalah makanan tinggi lemak dan tinggi karbohidrat yang meningkatkan kadar asam lemak bebas dan *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang memicu stres oksidatif dan inflamasi kronis, yang berperan dalam berbagai penyakit degeneratif. **Tujuan:** Penelitian ini ingin menggali potensi dan menentukan dosis efektif kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan daun pegagan (*Centella asiatica* (L) Urb.) terhadap inflamasi (diwakili oleh pemeriksaan *Tumor Necrosis Factor Alpha* atau TNF- α). **Metode:** Metode yang digunakan adalah metode preventif eksperimental secara *in vivo* dengan menggunakan hewan uji tikus sebanyak 35 ekor, terbagi menjadi kelompok normal, kelompok induksi, kelompok pembanding kurkumin 1,8 mg/kgBB, kelompok uji 1 ERK 200 mg/kgBB, kelompok uji 2 EDP 200 mg/kgBB, kelompok uji 3 ERKDP 200 : 100 mg/kgBB dan kelompok uji 4 ERKDP 100 : 200 mg/kgBB. Pengukuran kadar TNF- α menggunakan kit ELISA dilakukan pada hari ke-60. **Hasil:** Terdapat penurunan kadar TNF- α pada semua kelompok uji, yaitu kelompok ERK 200 mg/kg BB, EDP 250 mg/kgBB, kombinasi ERKDP 100 : 200 dan kombinasi ERKDP dosis 200 : 100 mg/kgBB. **Kesimpulan:** Kombinasi ERKDP dosis 200 : 100 mg/kgBB paling efektif dalam menekan peningkatan kadar TNF- α pada tikus obes.

Kata kunci: *Centella asiatica* (L.) Urb., *Curcuma domestica* Val., inflamasi, obesitas, *Tumor Necrosis Factor Alpha*

PENDAHULUAN

Pada obesitas, pembesaran jaringan adiposa putih (*White Adipose Tissue/WAT*) menginduksi tekanan mekanik dan retikulum endoplasma (ER) pada adiposit, yang menyebabkan pelepasan *free fatty acid* (FFA) dan sitokin inflamasi. Pada tahapan selanjutnya, rekrutmen sel imun pada WAT yang mengalami obesitas akan meningkatkan inflamasi lokal dan sistemik. Inflamasi kronis tingkat rendah yang dipicu oleh obesitas ini akan memengaruhi sensitivitas insulin pada semua organ metabolisme seperti WAT, hati, otot, pankreas, dan bahkan sistem saraf pusat. Peningkatan jumlah makrofag M1 pada WAT orang obes adalah sumber utama *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) dan interleukin-6 (IL-6) (Kern, et al, 2019).

Konsentrasi TNF- α yang meningkat pada orang obes memicu bertambahnya jumlah asam lemak bebas di sel adiposa, disertai dengan berkurangnya pembentukan adiponektin dan terganggunya sensitivitas insulin. Konsentrasi TNF- α yang meningkat juga berpengaruh terhadap *Nuclear Factor-Kappa-B* (NF- κ B) yang memicu terjadinya peningkatan ekspresi *adhesion molecule* pada permukaan sel endotel dan sel otot polos pembuluh darah. Adanya peningkatan *adhesion molecule* merangsang terjadinya peradangan di jaringan lemak dan merangsang terjadinya disfungsi endotel. Inflamasi dan disfungsi endotel dapat memicu kejadian sindrom metabolik (Hidayat dkk., 2021).

Kunyit merupakan tanaman yang dikenal luas di seluruh dunia, baik dalam skala domestik maupun industri. Kurkumin yang terkandung dalam rimpang kunyit (*Curcuma domestica*) bermanfaat sebagai antiinflamasi (anti radang) (Peng et al., 2021). Kunyit dapat menurunkan kadar malondialdehid, TNF- α , dan IL-6. Kunyit sebagai anti inflamasi dan anti oksidan berperan efektif dalam menghambat inflamasi dengan menurunkan sitokin IL-6 dan TNF- α . Kunyit dapat menghambat peroksidasi lipid yang diprakarsai oleh radikal bebas (Amunuddin, dkk, 2023).

Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) bisa ditemukan di berbagai tempat di Indonesia dengan mudah. Salah satu fungsinya adalah untuk mengobati radang. Penelitian Kandasamy dkk menunjukkan bahwa daun pegagan mempunyai aktivitas antioksidan, yang berimplikasi pada penggunaan pengobatan tradisional dan pengembangan obat di masa yang akan datang (Kandasamy, et al., 2023).

Penelitian ke arah aktivitas antiinflamasi dengan menggunakan kombinasi bahan alam masih jarang dilakukan. Penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi peran kombinasi rimpang kunyit dan daun pegagan terhadap inflamasi yang dipicu oleh obesitas, serta menjadi bahan untuk pembuatan sediaan nutrisi esensial di masa depan.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) (Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik – Balitro, Bogor), pakan hewan standar, pakan hewan tinggi lemak dan karbohidrat, fruktosa 30%, aquadest, etanol 96%, Na CMC 1%, tablet kurkumin dan kit TNF- α (*Bioassay Technology Laboratory*).

Alat

Rotary evaporator (Buchi Rotavapor R-215), *microplate reader* (Thermo Scientific, Multiskan skyhigh), timbangan analitik (Mettler Toledo), timbangan hewan (Mettler Toledo).

Metode

Persetujuan untuk penelitian ini diperoleh dari Komite Etik Penelitian Universitas Padjadjaran Bandung dengan nomor: 706/UN6.KEP/EC/2024.

Penelitian ini mempunyai tujuan untuk menggali kemungkinan adanya potensi antiinflamasi dari kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.). Pengukuran potensi antiinflamasi ini dilihat dari kadar TNF- α pada tikus obes yang diinduksi

oleh pemberian pakan dengan kandungan tinggi lemak dan tinggi karbohidrat, serta diberi minum larutan fruktosa 30%.

Metode penelitian ini adalah uji preventif secara eksperimental dengan metode uji *in vivo* menggunakan hewan tikus wistar jantan.

Penelitian ini menggunakan hewan uji tikus dengan jumlah minimal perlakuan tiap kelompok dihitung menggunakan rumus Federer. Ada 7 kelompok yang akan diuji dalam penelitian ini. Berdasarkan rumus Federer dihasilkan jumlah pengulangan setiap kelompok minimal 4 kali pengulangan. Dalam

penelitian ini dilakukan jumlah pengulangan setiap kelompok sebanyak 5 kali sehingga jumlah yang digunakan adalah sebanyak 5 x 7 kelompok uji = 35 ekor tikus.

Tikus yang dijadikan hewan uji dalam penelitian ini adalah tikus Wistar jantan yang berusia sekitar 2-3 bulan dengan berat sekitar 200-300 gram. Hewan uji dibagi menjadi 7 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Pengelompokan hewan uji dapat dilihat pada Tabel 1. Penelitian dilakukan selama 60 hari. Semua hewan uji, kecuali kelompok normal, diberi minum larutan fruktosa 30%.

Tabel 1. Pengelompokan hewan uji

Kelompok Uji	Keterangan
Kelompok Normal	Hewan diberikan pakan normal + Na-CMC 1%
Kelompok Induksi	Hewan diberikan pakan tinggi lemak tinggi karbohidrat + Na-CMC 1%
Kelompok Pembanding	Hewan diberikan pakan tinggi lemak dan tinggi karbohidrat + Kurkumin 1,8 mg/kgBB + Na-CMC 1%
Kelompok Uji 1 (ERK 200)	Hewan diberikan pakan tinggi lemak tinggi karbohidrat + ekstrak etanol rimpang kunyit 200 mg/kgBB + Na-CMC 1%
Kelompok Uji 2 (EDP 200)	Hewan diberikan pakan tinggi lemak tinggi karbohidrat + ekstrak etanol daun pegagan 200 mg/kgBB + Na-CMC 1%
Kelompok Uji 3 (ERKDP 200:100)	Hewan diberikan pakan tinggi lemak tinggi karbohidrat + ekstrak etanol rimpang kunyit:daun pegagan 200:100 mg/kgBB + Na-CMC 1%
Kelompok Uji 4 (ERKDP 100:200)	Hewan diberikan pakan tinggi lemak tinggi karbohidrat + ekstrak etanol rimpang kunyit:daun pegagan 100:200 mg/kgBB + Na-CMC 1%

Pengukuran parameter indeks berat badan dilakukan setiap hari. Pemeriksaan TNF α dilakukan pada hari ke-60.

Kriteria obes untuk tikus diambil berdasarkan peningkatan bobot badan > 20%. (Linder, 2014). Kadar normal TNF- α untuk tikus belum tersedia. Pada penelitian ini hasil pengukuran TNF- α tikus kelompok uji dibandingkan secara statistik terhadap kadar TNF- α tikus kelompok normal dan kelompok induksi.

Alat yang digunakan diantaranya adalah rotary evaporator (Buchi Rotavapor R-215), microplate reader (Thermo Scientific, Multiskan skyhigh), timbangan analitik (Mettler Toledo), timbangan hewan (Mettler Toledo).

Uji Aktivitas

Uji aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan mengukur kadar TNF- α dalam serum. Setelah tikus diberikan perlakuan sesuai kelompok

selama 60 hari, dilakukan pengambilan darah dari vena di bagian bawah mata. Darah yang telah diambil kemudian dimasukkan ke dalam tabung vakum berisi EDTA 0,1% sebagai antikoagulan. Sentrifugasi dilakukan selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Tahap selanjutnya adalah pemisahan plasma. Kadar TNF- α diukur dengan menggunakan metode sandwich ELISA. *Microplate reader* digunakan untuk mengukur densitas optik pada panjang gelombang 450 nm.

Uji Statistik

Dari data hasil pengamatan, hasil dianalisis secara statistika menggunakan aplikasi SPSS 25.0. Uji normalitas serta uji homogenitas dilakukan di awal. Apabila distribusi data normal dan varians data sama atau homogen ($p > 0,05$) maka dilanjutkan ke analisis selanjutnya, yaitu *One Way Anova* untuk melihat apakah data hasil pengamatan memiliki perbedaan yang signifikan. Selanjutnya dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* untuk melihat kemungkinan adanya perbedaan antara kelompok perlakuan. Bila data tidak berdistribusi normal atau varians data tidak homogen maka dilanjutkan pada uji alternatif dengan analisis Kruskal Wallis untuk melihat apakah data hasil pengamatan memiliki perbedaan yang signifikan dan uji *Post Hoc*, yaitu uji Mann Whitney. Uji ini dimaksudkan untuk melihat kemungkinan adanya perbedaan antara kelompok pengujian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan pegagan (*Centela asiatica* (L.) Urb.) dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjajaran (UNPAD) dengan nomor sertifikasi determinasi No. 62/HB/05/2024 dan No. 61/HB/05/2024.

Pengukuran bobot badan dilakukan setiap hari selama 60 hari. Tujuan dari pengukuran bobot badan ini adalah untuk mengetahui kenaikan bobot badan tikus yang digunakan serta untuk menentukan apakah bobot tikus yang digunakan sudah termasuk ke dalam kategori obes. Hasil pengukuran bobot badan disajikan dalam Tabel 2.

Pada tabel 2 dapat diamati adanya peningkatan bobot badan seluruh kelompok, baik itu kelompok normal, kelompok pembanding (kurkumin 1,8 mg/kgBB) dan seluruh kelompok uji dengan perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok induksi ($p < 0,05$). Data dari penelitian ini memperlihatkan hal yang sama dengan penelitian yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya. Pada penelitian-penelitian terdahulu, pemberian pakan dengan kandungan tinggi lemak dan tinggi karbohidrat dapat meningkatkan bobot badan hewan uji >20% (Linder et al., 2014). Pemberian pakan dengan kandungan lemak dan karbohidrat yang tinggi dapat menyebabkan terjadinya penumpukan lemak di bagian kulit. Hal ini berdampak pada peningkatan bobot badan tikus.

Tabel 2. Rata-rata bobot badan tikus setelah pemberian pakan tinggi lemak dan tinggi karbohidrat selama 60 hari

Kelompok	Rata-rata bobot badan (gram)		
	H0	H60	% kenaikan
Normal	194,25 \pm 4,35	225,75 \pm 1,89 ^{*β}	16,26 \pm 2,73 [*]
Induksi	220,50 \pm 22,78	296,75 \pm	35,39 \pm 14,34 [#]
Kurkumin	181,25 \pm 8,77	24,15 ^{#*β}	-12,42 \pm 6,68 ^{**}
ERK 200	195,25 \pm 19,19	158,25 \pm 6,99 ^{**}	-8,62 \pm 5,35 ^{**}
EDP 200	192,75 \pm 16,64	178,25 \pm 18,84 ^{#*}	-3,12 \pm 8,70 ^{#*β}
ERKDP 200:100	211,25 \pm 9,91	186,00 \pm 13,86 ^{#*}	-8,24 \pm 5,72 ^{**}
ERKDP 100:200	206,50 \pm 11,36	194,25 \pm 21,20 [*]	-12,61 \pm 6,23 ^{#*}
		180,00 \pm 6,27 ^{**}	

Keterangan:

#Berbeda bermakna jika dibandingkan dengan kelompok normal ($P < 0,05$),

*Berbeda bermakna jika dibandingkan dengan kelompok induksi ($P < 0,05$),

ERK = Ekstrak Rimpang Kunyit,

EDP = Ekstrak Daun Pegagan,

ERKDP = Ekstrak Rimpang Kunyit dan Daun Pegagan

Setelah perlakuan, semua kelompok uji menunjukkan adanya penurunan berat badan. Penurunan bobot badan paling tinggi ditemukan pada kelompok kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan daun pegagan (ERKDP) 100:200 mg/kgBB, yaitu sebesar $-12,61 \pm 6,23\%$. Hal ini menunjukkan bahwa ERKDP 100:200 mg/kgBB dapat mempertahankan kenaikan bobot badan lebih baik daripada dosis di kelompok uji lainnya. Peningkatan dosis ekstrak etanol daun pegagan memiliki pengaruh terhadap aktivitas mempertahankan bobot badan dimana semakin besar dosis ekstrak etanol daun pegagan semakin baik aktivitasnya dalam mempertahankan kenaikan bobot badan.

Penelitian Rameshreddy dan Sun menunjukkan bahwa triterpenoid dalam fraksi etanol herba pegagan memiliki kandungan *asiatic acid* dan *madecassic acid* sebesar 60% dan *asiaticoside* sebesar 40%. Pemberian *madecassic acid* pada tikus diabetes-obes dapat mencegah peningkatan bobot badan. (Rameshreddy, et al., 2018; Sun, et al., 2020).

Kondisi obesitas sering dihubungkan dengan peningkatan kadar *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- α) dalam tubuh. TNF- α merupakan sitokin yang berhubungan erat dengan respon inflamasi sistemik. TNF- α juga terlibat dalam pembentukan resistensi insulin, terkait erat dengan obesitas, dan diabetes. Pengujian kadar TNF- α dilakukan dengan menggunakan ELISA kit dari *Bioassay Technology Laboratory*.

Tabel 3. Rata-rata kadar TNF- α tiap kelompok setelah pemberian pakan tinggi lemak dan tinggi karbohidrat selama 60 hari

Kelompok	Kadar TNF (ng/L) (Mean \pm SD)
Normal	4,70 \pm 1,43*
Induksi	8,24 \pm 1,58 ^{#β}
Kurkumin	3,67 \pm 0,85*
ERK 200	3,20 \pm 0,10* ^{β}
EDP 200	2,99 \pm 0,32*
ERKDP 200:100	3,55 \pm 0,70*
ERKDP 100:200	4,21 \pm 2,81*

Keterangan:

#Berbeda bermakna jika dibandingkan dengan kelompok normal ($P < 0,05$),

*Berbeda bermakna jika dibandingkan dengan kelompok induksi ($P < 0,05$),

ERK = Ekstrak Rimpang Kunyit,

EDP = Ekstrak Daun Pegagan,

ERKDP = Ekstrak Rimpang Kunyit dan Daun Pegagan

Pada tabel 3 dapat dilihat hasil pengukuran kadar TNF- α rata-rata dari hewan uji. Pada hewan uji yang mengalami obesitas, kadar TNF- α cenderung tinggi akibat adanya penumpukan asam lemak bebas dalam tubuh

yang dihasilkan dari proses hiperplasia dan hipertrofi jaringan adiposa. Suatu senyawa uji dikatakan baik apabila mampu menurunkan kadar TNF- α dalam tubuh. Senyawa yang dapat menurunkan kadar TNF- α ini dapat

dijadikan sebagai salah satu pilihan untuk penatalaksanaan atau pengobatan obesitas.

Dari hasil uji statistik pada tabel 3 terlihat bahwa kelompok pembanding kurkumin dan seluruh kelompok uji menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok induksi. Hal ini menandakan bahwa ekstrak etanol rimpang kunyit, ekstrak etanol daun pegagan, maupun kombinasi kedua ekstrak tersebut memiliki pengaruh untuk menurunkan kadar TNF- α dan sejalan dengan kelompok pembanding kurkumin 1,8 mg/kgBB. Ekstrak etanol daun pegagan dengan dosis 200 mg/kgBB memiliki nilai kadar TNF- α yang lebih rendah, yaitu sebesar $2,99 \pm 0,32$ ng/L, sementara untuk kombinasinya dosis terbaik yang dapat menurunkan kadar TNF- α terbesar ditemukan pada kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit daun pegagan 200:100 mg/kgBB, dengan nilai TNF- α sebesar $3,55 \pm 0,70$ ng/L.

KESIMPULAN

Pemberian kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan daun pegagan dapat mempengaruhi kadar TNF- α . Kombinasi ekstrak etanol rimpang kunyit dan daun pegagan 200:100 mg/kg BB dapat menurunkan kadar TNF- α paling tinggi.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi peran kombinasi rimpang kunyit dan daun pegagan terhadap inflamasi yang dipicu oleh obesitas, serta menjadi bahan untuk pembuatan sediaan nutrisi esensial di masa depan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dapat dilaksanakan dengan adanya bantuan dari Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat (DRPM) Universitas Bhakti Kencana dengan nomor 039/02.PPM/UBK/VII/2024.

DAFTAR PUSTAKA

Aminuddin, M., Sargowo, D., Sardjono, T.W., Widjiati. 2023. Curcuma longa supplementation reduces MDA, TNF- α , and IL-6 levels in a rat model exposed to

soot particulates. *Open Veterinary Journal*. 13(1): 11-19.

Hidayat, H., Parawansa, I. S. 2021. Korelasi Sitokin Interleukin 6 (Il 6) Dengan Adiponektin Pada Penderita Obesitas Dengan Sindroma Metabolik. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*. 8 (4): 466-475.

Kandasamy, A., Aruchamy, K., Rangasamy, P., Varadhaiyan. D., Gowri. C., Oh, T.H., Ramasundaram, S., Athinarayanan, B. 2023. Phytochemical Analysis and Antioxidant Activity of Centella Asiatica Extracts: An Experimental and Theoretical Investigation of Flavonoids. *Plants (Basel)*, 12(20):3547.

Kern, L., Mittenbühler, M.J., Vesting, A.J., Ostermann, A.L., Wunderlich, C.M., Wunderlich, F.T. 2019. Obesity-Induced TNF α and IL-6 Signaling: The Missing Link between Obesity and Inflammation-Driven Liver and Colorectal Cancers. *Cancers*, 11(24): 1-21.

Linder D, Mueller M. 2014. Pet obesity management. Beyond Nutrition. *Vet Clin Small Anim*. 44: 789–806.

Peng, Y., Ao, M., Dong, B., Jiang, Y., Yu, L., Chen, Z. 2021. Anti-inflammatory effects of curcumin in the inflammatory diseases: Status, limitations and countermeasures. *Drug Design, Development and Therapy*. 15: 4503–4525.

Rameshreddy, P., Uddandrao, V. V. S., Brahmanaidu, P., Vadivukkarasi, S., Ravindarnaik, R., Suresh, P., Saravanan, G. 2018. Obesity-alleviating potential of asiatic acid and its effects on ACC1, UCP2, and CPT1 mRNA expression in high fat diet-induced obese Sprague–Dawley rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 442(1–2): 143–154.

Sun, B., Wu, L., Wu, Y., Zhang, C., & Qin, L. 2020. Therapeutic Potential of Centella asiatica and Its Triterpenes: A Review. *Frontiers in Pharmacology*. 11.