

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Hasil Penelitian Terdahulu

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Zhao, Feng (2014) membandingkan aktivitas antiinflamasi dari 3 metabolit utama dengan kurkumin, dihasilkan bahwa kurkumin dan THC secara signifikan menghambat pelepasan sitokin Pro-inflamasi *TNF- α* dan *IL-6* yang diinduksi oleh lipopolisakarida, namun *hexahydrocurcumin* dan *octahydrocurcumin* tidak secara signifikan mengubah pelepasan setokin. Pada penelitian Zhao pemberian THC menggunakan tikus putih wistar melalui rute peroral. Kemungkinan dari feses dan urin tikus yang diisolasi selama 48 jam. Sementara itu pada penelitian ini hanya membuktikan efek antiinflamasi dari THC terhadap pembentukan edema buatan pada tikus putih yang diinduksi karagenin yang dibuat dalam bentuk sediaan topikal dengan menggunakan natrium diklofenak sebagai kontrol positif.

B. Landasan Teori

1. Inflamasi

Inflamasi adalah usaha tubuh untuk menginaktifkan atau merusak organisme tubuh yang menyerang, menghilangkan zat iritasi, dan mengatur derajat perbaikan jaringan (Mycek, 2001). Inflamasi yang terjadi merupakan reaksi setempat dari jaringan atau sel terhadap suatu rangsangan atau cedera. Setiap ada cedera, terjadi rangsangan untuk dilepaskan zat kimia tertentu yang akan menstimulasi terjadinya perubahan jaringan pada reaksi radang tersebut, diantaranya adalah histamin, serotonin, bradikinin, leukotrien, dan prostaglandin.

Tanda klinik umumnya terjadi pada proses inflamasi yaitu rubor (kemerahan), tumor (pembengkakan), calor (panas setempat yang berlebihan), dolor (rasa nyeri), dan *functiolaesa* (gangguan

fungsi/kehilangan fungsi jaringan yang terkena).radang timbul maka pembuluh darah melebar.

- a. Rubor terjadi pada tahap pertama dari proses inflamasi yang terjadi karena darah terkumpul di daerah jaringan yang cedera akibat dari pelepasan mediator kimia tubuh (*kinin, prostaglandin, histamin*). Ketika reaksi radang timbul maka pembuluh darah melebar (vasodilatasi pembuluh darah) sehingga lebih banyak darah yang mengalir ke dalam jaringan yang cedera.
- b. Tumor (pembekalan) merupakan tahap kedua dari inflamasi yang ditandai adanya aliran plasma ke daerah jaringan yang cedera.
- c. Kalor (panas) berjalan sejajar dengan kemerahan karena disebabkan oleh bertambahnya pengumpulan darah (banyaknya darah yang disalurkan), atau mungkin karena pirogen yang mengganggu pusat pengaturan panas pada hipotalamus.
- d. Dolor (nyeri) disebabkan perubahan lokal ion-ion tertentu dapat merangsang ujung saraf, timbulnya keadaan hiperalgesia akibat pengeluaran zat kimia tertentu seperti histamin atau zat kimia bioaktif lainnya dapat merangsang saraf, pembengkakan jaringan yang meradang mengakibatkan peningkatan tekanan lokal juga dapat merangsang saraf.

Mekanisme Terjadi Inflamasi adalah reaksi setempat dari jaringan atau sel terhadap suatu rangsangan atau cedera. Setiap ada cedera, terjadi rangsangan untuk dilepaskan zat kimia tertentu yang akan menstimulasi terjadinya perubahan jaringan pada reaksi radang tersebut, diantaranya adalah histamin, serotonin, bradikinin, leukotrien, dan prostaglandin. Histamin bertanggung jawab pada perubahan yang paling awal yaitu menyebabkan vasodilatasi pada arteriol yang didahului dengan vasokonstriksi awal dan peningkatan permeabilitas kapiler, hal ini menyebabkan perubahan distribusi sel darah merah. Oleh karena aliran darah yang lambat, sel darah merah akan menggumpal, akibatnya sel darah putih melekat pada dinding endotel. Perubahan permeabilitas yang terjadi menyebabkan cairan

keluar dari pembuluh darah dan terakumulasi dalam jaringan. Bradikinin bereaksi lokal menimbulkan rasa sakit, vasodilatasi, serta meningkatkan permeabilitas kapiler. Prostaglandin berpotensi kuat setelah bergabung dengan mediator lainnya dalam menyebabkan peradangan (Mansjoer E, 1999).

2. Antiinflamasi

Antiinflamasi adalah sebutan untuk obat yang bekerja melawan atau menekan proses peradangan (Dorland, 2008). Terdapat tiga mekanisme yang digunakan untuk menekan peradangan yaitu pertama penghambatan enzim siklooksigenase. Siklooksigenase mengkatalis sintesis pembawa pesan kimiawi yang poten yang disebut prostaglandin, yang mengatur peradangan, suhu tubuh, analgesia, agregasi trombosit dan sejumlah proses lain. Mekanisme kedua untuk mengurangi peradangan melibatkan penghambatan fungsi-fungsi imun. Dalam proses peradangan, peran prostaglandin adalah untuk memanggil sistem imun. Infiltrasi jaringan lokal oleh sel imun dan pelepasan mediator kimia oleh sel-sel seperti itu menyebabkan gejala peradangan (panas, kemerahan, nyeri). Mekanisme ketiga untuk mengobati peradangan adalah mengantagonis efek kimia yang dilepaskan oleh sel-sel imun. Histamin, yang dilepaskan oleh sel mast dan basofil sebagai respon terhadap antigen, menyebabkan peradangan dan konstriksi bronkus dengan mengikat respon histamine pada sel-sel bronkus (Olson, 2003 dalam Fridiana, 2012). Obat-obat Antiinflamasi konvensional yaitu:

a. Antiinflamasi Kortikosteroid

Kortikosteroid bekerja dengan cara menghambat fosfolipase, enzim yang bertanggung jawab terhadap pelepasan asam arakidonat dari membran lipid. Ketika fosfolipase dihambat maka pembentukan prostaglandin maupun leukotrien dihambat. Contoh golongan obat ini antara lain prednison, deksametason, hidrokortison dan betametason (Tjay & Rahardja, 2007).

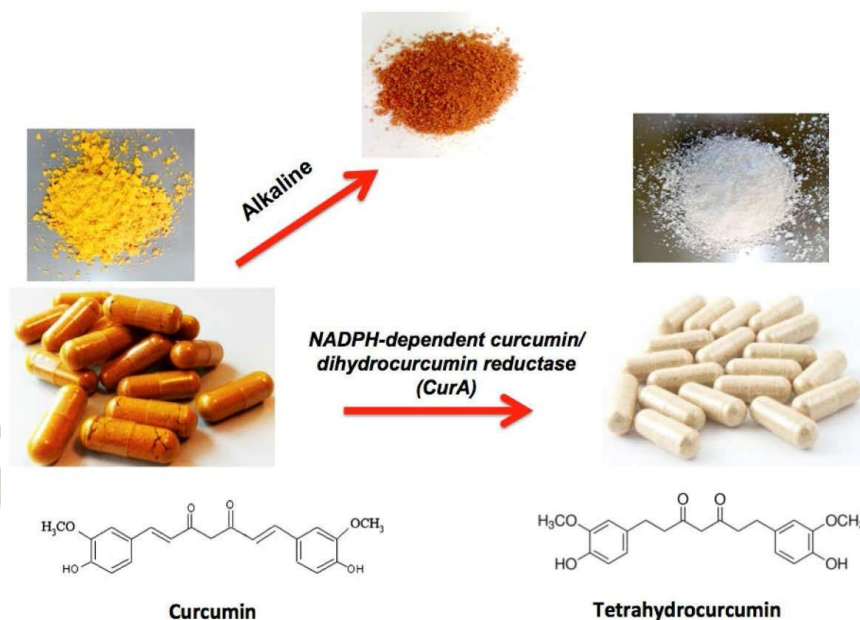
b. Antiinflamasi non steroid

Obat ini bekerja menghambat enzim siklooksigenase sehingga pembentukan asam arakidonat menjadi PGG₂ terganggu. Contoh golongan obat ini antara lain Na diklofenak, ibuprofen, indometasin, meloksikam, dan piroksikam (Gunawan, 2007). Na diklofenak digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini, obat ini merupakan derivat fenil asetat yang termasuk NSAID yang memiliki daya anti radang paling kuat dengan efek samping yang kurang dibandingkan dengan obat lainnya seperti indometasin, piroxicam (Tjay & Rahardja, 2007). Obat ini bekerja menghambat aktivitas enzim siklooksigenase yang mengubah asam arakidonat menjadi prostaglandin. Absorpsi obat ini berlangsung cepat dan lengkap yang terikat 99% pada protein plasma dan mengalami efek lintas pertama (first-pass) sekitar 50%. Waktu paruh dalam plasma yaitu 1-2 jam. Na diklofenak diakumulasi di cairan sinovial yang menjelaskan bahwa efek terapi di sendi jauh lebih panjang dari waktu paruh tersebut. Dosis orang dewasa 100-150 mg sehari terbagi dua atau tiga dosis.

3. *Tetrahydrocurcumin* (THC)

Kurkumin merupakan senyawa polifenol yang diekstrak dari rimpah kunyit (*curcuma longa linn*). Kurkumin dilaporkan memiliki efek farmakologi sebagai anti inflamasi. THC adalah salah satu hasil metabolisme kurkumin yang memiliki sifat fisiologi dan farmakologis sama dengan kurkumin. THC banyak digunakan dalam sediaan farmasi dan kosmetik. THC memiliki bentuk bubuk berwarna putih, berat molekul 372,41 Da dan titik leleh 85-100°C. THC tidak larut dalam air dan larut dalam alkohol, aseton, serta asam asetat glasial. Karena sifat kelarutan tersebut efek farmakologi menjadi terhambat. Selain itu THC memiliki waktu pengosongan lambung relatif singkat yang mengakibatkan pelepasan THC dari sediaan tidak baik sehingga berpengaruh terhadap penyerapan dan berkurang efektifitas dosis (Setthacheewakul *et al.*, 2011). THC

sangat stabil di 0,1 M buffer fosfat pada berbagai pH dan lebih stabil dari kurkumin dalam 0,1 M dapar fosfat pH 7,2 (37°C) (Aggarwal et al., 2014).



Gambar 2.1 Perbedaan Curcumin dan Tetrahydrocurcumin

Berdasarkan gambar 2.1 perbedaan struktur THC adalah hilangnya dua gugus diena pada karbon α dan β . Gugus fenol dan keton pada CUR yang bersifat sebagai antioksidan, tetap ada pada THC (Bartosz, 2014)

Teretrahydrocurcumin berupa serbuk kristal tidak berwarna atau putih, larut dalam propilen glikol (1:8 pada 40°C), polysorbate 20 (1:4 pada 40°C), agak larut dalam etanol, tidak larut dalam air dan gliserin (Pubchem, 2016). THC lebih stabil dalam pH fisiologis dan lebih mudah larut dalam air dibanding CUR. Aktivitas antioksidan dan antiinflamasi THC lebih poten dibandingkan CUR. Nilai pK_a-nya adalah 8,54 (Bartosz, 2014).

4. Losio

Losio termasuk sediaan setengah padat yang diaplikasikan pada tubuh, mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai dan diformulasi sebagai emulsi air dalam minyak atau minyak dalam air. (Depkes RI, 1995).

Losio dimaksudkan untuk penggunaan pada kulit sebagai pelindung atau untuk obat karena bersifat bahan-bahannya. Sifatnya yang cair memungkinkan pemakaian yang merata dan cepat pada permukaan kulit. Setelah dipakai losio akan segera kering dan meninggalkan lapisan tipis dari komponen obat pada permukaan kulit. Fase terdispersi pada losio cenderung untuk memisahkan diri dari pembawanya bila didiamkan sehingga losio harus dikocok kuat setiap akan digunakan supaya bahan-bahan yang telah memisah terdispersi kembali (Ansel, 1989).

5. Uraian bahan losio

a. Asam stearat

Asam stearat merupakan asam lemak yang terdiri dari rantai hidrokarbon, diperoleh dari lemak dan minyak yang dapat dimakan, dan berbentuk serbuk berwarna putih. Asam stearat mudah larut dalam kloroform, eter, etanol, dan tidak larut dalam air. Bahan ini berfungsi sebagai pengemulsi dalam sediaan kosmetika. Asam stearat dapat menghasilkan kilauan yang khas pada produk losio (Depkes RI, 1986).

b. Propil paraben

Propil Paraben atau Nipazol berupa kristal tidak berwarna atau serbuk putih, tidak berbau, tidak berasa. Bahan ini sangat sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol dan dalam eter. Propil paraben digunakan sebagai pengawet antimikroba dalam kosmetik dan sediaan farmasetika. Propil paraben untuk pembuatan losio sebesar 0,02-0,3% (Rowe, 2009)

c. Metil paraben

Metil paraben merupakan zat berwarna putih atau tidak berwarna, berbentuk serbuk halus, dan tidak berbau. Zat ini mudah larut dalam etanol 95%, eter, dan air tetapi sedikit larut benzena, dan karbon tetraklorida. Metil paraben sering digunakan dalam losio karena dapat mencegah pertumbuhan bakteri dan jamur serta dapat mempertahankan losio dari

mikroorganisme yang dapat merusak. Metil paraben termasuk salah satu jenis pengawet yang biasa digunakan dalam pembuatan losio. Bahan pengawet yang biasa ditambahkan pada pembuatan losio sebesar 0,1-0,2%. Pengawet yang digunakan sebagai tambahan pada produk menyebabkan mikroba tidak dapat tumbuh karena pengawet bersifat antimikroba. Pengawet harus ditambahkan pada suhu yang tepat pada saat proses pembuatan losio, yaitu antara suhu 35-45.°C agar tidak merusak bahan aktif yang terdapat dalam pengawet tersebut (Rowe, 2009).

d. Triethanolamin

Triethanolamin atau TEA merupakan cairan tidak berwarna atau berwarna kuning pucat, jernih, tidak berbau atau hampir tidak berbau, dan higroskopis. Cairan ini dapat larut air dan etanol tetapi sukar larut dalam eter. TEA berfungsi sebagai pengatur pH dan pengemulsi pada fase air dalam sediaan losio. TEA merupakan bahan kimia organik yang terdiri dari amina dan alkohol dan berfungsi sebagai penyeimbang pH pada formulasi losion. TEA tergolong dalam basa lemah. (Rowe, 2009)

e. Setil alkohol

Setil alkohol yang digunakan dalam sediaan farmasi adalah campuran alkohol alifatik yang solid terutama terdiri dari 1-hexadecanol ($C_{16}H_{34}O$). USF32-NF27 menetapkan tidak kurang dari mudah larut dalam etanol (95%) dan eter. Kelarutan meningkat dengan meningkatnya suhu, praktis tidak larut dalam air. Larut ketika mencair dengan lemak, parafin cair dan padat, dan isopropil miristat.

Dalam losio, krim, dan salep, setil alkohol digunakan karena emoliennya (konsentrasi 2-5%), daya serap air (konsentrasi 2-5%), dan agen pengemulsinya (konsentrasi 2-5%). Meningkatkan stabilitas. Tekstur dan konsistensi. Setil

alkohol juga bertindak sebagai agen pengemulsi lemak tipe air dalam minyak, sehingga memungkinkan pengurangan kualitas agen pengemulsi lain digunakan dalam formulasi (Rowe et al, 2009).

f. Gliserin

Gliserin mengandung tidak kurang dari (95%) dan tidak lebih dari 101,0% $C_3H_6O_3$. Gliserin merupakan cairan jernih seperti sirup, tidak berwarna, rasa manis, hanya boleh berbau khas lemah (tajam atau tidak enak), higroskopis, netral terhadap lakus. Kelarutan dapat bercampur dengan air, dengan etanol, tidak larut dengan kloroform, dalam eter, dalam minyak lemak.

g. Parafin cair

Parafin cair merupakan campuran cairan jernih jenuh alifatik dan hidrokarbon siklis dari petroleum. Bentuknya cairan minyak kental yang transparan, tidak berwarna, dan tidak mempunyai rasa. Parafin cair memiliki titik didih $>360^{\circ}C$ dan larut dalam aseton, benzena, kloroform, karbon disulfida eter, petroleum eter, sehingga praktis tidak larut air. Parafin cair dapat berfungsi sebagai emolien, lubrikan, dan pelarut. Penggunaan parafin cair pada emulsi topikal yaitu 1,0-32,0%. Viskositasnya sebesar 110-230 mPa pada $20^{\circ}C$ dan inkompatibel dengan agen pengoksidasi yang kuat (Rowe et al, 2009)

h. Akuades

Air merupakan komponen yang paling besar persentasenya dalam Pembuatan losio. Air yang digunakan dalam pembuatan losio merupakan air murni yaitu air yang diperoleh dengan cara penyulingan, proses penukaran ion dan osmosis sehingga tidak lagi mengandung ion-ion dan mineral-mineral. Air murni hanya mengandung molekul air saja dan dideskripsikan sebagai cairan

jernih, tidak berwarna, tidak berasa, memiliki pH 5,0-7,0 dan berfungsi sebagai pelarut.

6. D-Optimal

Optimasi merupakan suatu cara untuk menghasilkan hasil terbaik sesuai dengan batasan yang diberikan. Optimasi bertujuan untuk meminimalkan usaha yang diperlukan atau biaya operasional dan memaksimalkan hasil yang diinginkan.

Design expert adalah *software* yang digunakan untuk membentuk mendesain dan menginterpretasikan beberapa faktor percobaan. *Software* ini ada beberapa metode yang digunakan untuk optimasi seperti *Simplex lattice design*, *Factorial design*, dan *D-optimal* (Buxton, 2007). Pada penelitian ini digunakan *D-Optimal*.

D-Optimal digunakan untuk meminimalkan variasi dari koefisien regresi yang diperkirakan. Algoritma *D-Optimal* digunakan untuk memperkirakan model matematis hubungan antara respon (Y) dengan variabel bebas (faktor-faktor). Model optimasi *D-Optimal* ditentukan dari faktor utama dengan nama yang terdiri dari satu atau beberapa huruf, seperti A B C (NCSS).

7. Uji daya Antiinflamasi

Metode yang digunakan dalam uji daya antiinflamasi adalah paw edema. Edema buatan dengan menginjektikan larutan karagenin secara intraplantar pada telapak kaki tikus. Pada kaki belakang tikus ditandai sebatas mata kaki dan diukur volume dengan alat jangka sorong. Volume edem adalah selisih volume kaki tikus setelah diinjeksikan dengan karagenin dengan volume sebelumnya diinjeksikan dengan karagenin. Efek inflamasi yang dimaksud adalah kemampuan bahan uji untuk mengurangi pembengkakan kaki hewan uji akibat injeksi karagenin yang disuntik.

Pada penelitian ini, karagenin digunakan sebagai penginduksi edema, karagenan merupakan polisakarida yang akan melepaskan mediator inflamasi karena dikenali tubuh sebagai substansi asing.

Karagenin secara luas digunakan sebagai pemodelan untuk menginduksi edema pada uji eksperimental dengan hewan tanpa menyebabkan perlukaan atau kerusakan jaringan. Edema yang ditimbulkan dari induksi karagenin terjadi secara akut. Edema yang dihasilkan dapat bertahan selama 6 jam dan berangsur-angsur turun dalam 24 jam setelah induksi karagenin. Karagenin terdiri atas 3 jenis yakni iota, kappa, dan lambda.

8. Hewan Percobaan

Hewan percobaan adalah hewan yang sengaja dipelihara dan diternakkan untuk dipakai sebagai hewan model guna mempelajari dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratories (Malole dan Pramono, 1989). Tikus sering digunakan pada berbagai macam penelitian medis selama bertahun-tahun. Hal ini dikarenakan tikus memiliki karakteristik genetik yang unik, mudah berkembang biak, murah serta mudah mendapatkannya. Tikus merupakan hewan yang melakukan aktivitasnya pada malam hari (*nocturnal*) (Adiyati, 2011). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) atau biasa dikenal dengan nama lain *Norway rat* berasal dari wilayah cina dan menyebar ke eropa bagian barat (Sirosis, 2005). Pada wilayah asia tenggara, tikus ini berkembang biak di Filipina, Indonesia, Laos, Malaysia, dan Singapura.

Berikut ini adalah Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut Basselen (2004):

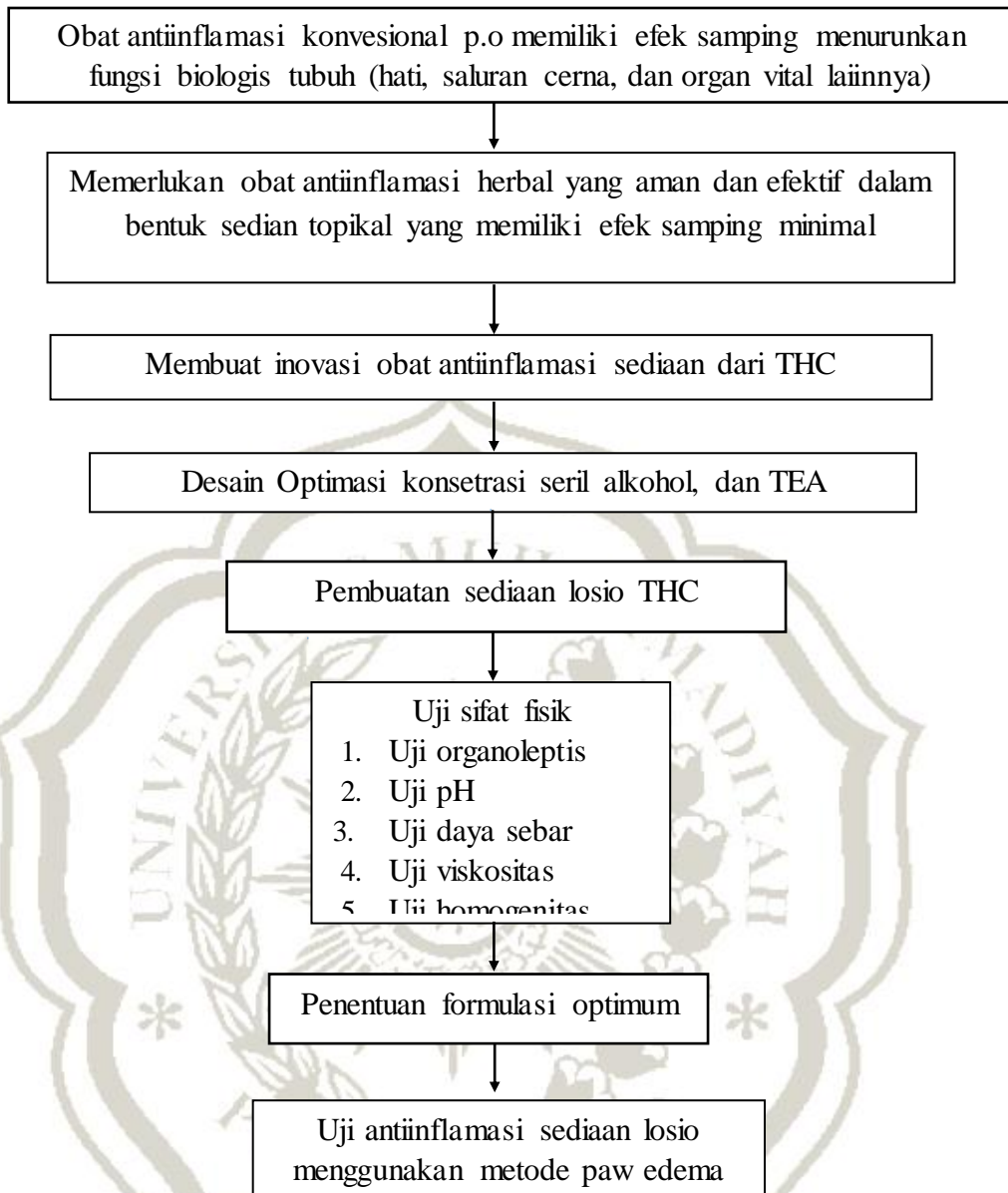
Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub-filum	: Theria
Kelas	: Mammalia
Sub-kelas	: Thearia
Ordo	: Rodensia
Sub-ordo	: Scuirognathi
Famili	: Muridae

Sub- famili : Murinea
Genus : *Rattus*
Spesies : *Rattus norvegicus*

Jenis tikus yang paling umum digunakan adalah jenis albino galur *Sprague Dawley (SD)*, Wistar, dan Long Evans. Galur SD dan Wistar merupakan outbred stocks yang merujuk pada hewan yang secara genetik tidak identik atau tidak seragam. Perkawinan antara tikus dilakukan secara acak atau dengan cara menerapkan skema rancangan perkawinan. Hal ini dilakukan untuk menghindari akibat dari inbreeding yaitu menjaga keragaman genetik dan mencegah terjadinya stres. Beberapa keuntungan dari penggunaan outbred stocks antara lain rentang hidup yang panjang, resistensi terhadap penyakit yang tinggi, ukuran yang besar, pertumbuhan dan fertilitas yang cepat (Suckow *et al*, 2006).

Jenis tikus yang digunakan pada penelitian ini adalah galur wistar. Galur Wistar adalah salah satu galur tikus paling populer yang digunakan untuk penelitian laboratorium yaitu sebagai model dalam penelitian biomedik (Johnson 2012). Tikus Wistar (albino) dikembangkan pertama kali di Wistar Institute Philadelphia pada tahun 1906 dengan nama katalog WISTAR RAT (Wistar Institute 2016). Karakteristik tikus Wistar adalah kepala tikus yang lebar, telinga panjang, dan memiliki panjang ekor yang kurang dari panjang tubuhnya. Tikus Wistar lebih aktif (agresif) daripada jenis lain seperti tikus Sprague-Dawley (Sirois, 2005).

C. Kerangka konsep



Gambar 2.2 Kerangka Konsep Penelitian

D. Hipotesis

Kombinasi TEA dan setil alkohol yang mengandung THC menghasilkan formula optimum yang memiliki aktivitas antiinflamasi yang baik dilihat dari nilai AUC yang kecil dan % Daya Antiinflamasi yang besar

