

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Rangkaian percobaan dengan menggunakan desain penelitian *pre* dan *post test with control group* yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui potensi *Pineapple Stem (Ananas comosus)* sebagai antiinflamasi dibandingkan dengan kortikosteroid terhadap edema pada telapak kaki tikus model inflamasi yang diinduksi carrageen. Percobaan dilakukan dengan mengukur volume awal kaki tikus sebelum dilakukan perlakuan, kemudian menginjeksikan carrageen ke telapak kaki tikus untuk membuat edema, memberikan perlakuan 3 dosis bromelain dan kortikosteroid secara per oral, kemudian menghitung volume kaki tikus setiap 15 menit selama satu jam. Pengukuran volume kaki tikus dilakukan secara kuantitatif menggunakan modifikasi Plestimometer dengan cara mencelupkan kaki tikus sampai ke batas malleolus lateral yang sudah ditandai dengan tinta ke dalam *measuring cylinder* yang berisi air dan mengukur perbedaan volume air pada *measuring cylinder* tadi, sebelum dan sesudah diberi perlakuan setiap 15 menitnya. Pertambahan volume air akibat edema dihitung sebagai delta volume edema. Perhitungan volume ini dilakukan karena terdapat perbedaan volume kaki awal (kontrol negatif) pada tiap kaki tikusnya, sehingga untuk mengetahui dengan jelas perubahan volume yang terjadi dapat dilihat dari pengurangan volume edema dengan volume awal.

Proses inflamasi yang menghasilkan edema pada kaki tikus mulai terjadi sesaat setelah injeksi carrageen. Carrageen sendiri merupakan ekstrak mukopolisakarida yang terdiri dari unit galaktosa sulfat dan didapatkan dari rumput laut *Chondrus crispus* yang ditemukan oleh seorang farmasis Inggris di

Standford pada tahun 1862. Struktur kimia carrageen adalah kompleks polisakarida yang terdiri dari pengulangan *galactose-related monomer* dan dibagi menjadi 3 jenis, yaitu: kappa, iota dan lambda, yang memiliki perbedaan pada karakteristik *gel* dan kereaktifan protein. Carrageen kappa dan iota membentuk *gel* dengan air sedangkan carrageen lambda tidak. Carrageen lambda dapat digunakan sebagai penginduksi inflamasi akut saat diinjeksikan ke jaringan lunak tikus, karena bukan *gel* kuat dalam suhu ruangan dan sudah umum digunakan untuk membuat edema dan *hyperalgesia* (Paul and Willoughby, 2003). Carrageen banyak digunakan sebagai penginduksi edema pada telapak kaki tikus untuk mendeteksi agen antiinflamasi. Hal tersebut disebabkan karena carrageen tidak bersifat antigenik dan tidak berefek sistemik ( Hosseinzadeh, 2000; Zakaria, 2001; Somchit, 2003). Penggunaannya sebagai agen iritan diperkenalkan oleh Winter et al (1962). Carrageen menyebabkan episode inflamasi bifasik yang terjadi karena berbagai mediator inflamasi bekerja secara berurutan menghasilkan respon inflamasi (Vinegar et al., 1969) yang tandatandanya meliputi munculnya *tumor* (edema), *rubor* (merah), *kalor* (panas), *dolor* (nyeri) dan *functio laesa* (kehilangan fungsi) (Furst and Muster, 2002). Efek edema yang dihasilkan carrageen seperti yang telah disebutkan di atas merupakan parameter yang diukur pada penelitian ini. Pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa efek awal pembentukan edema yang mengindikasikan adanya histamin, serotonin, bradikinin diikuti dengan prostaglandin yang terlibat dalam peningkatan permeabilitas pembuluh darah (Cuzzocrea et al., 1999) serta berperan penting dalam menimbulkan edema dan nyeri (Cotran and Mitchell, 2007) muncul antara 1 sampai 2 jam setelah carrageen diinjeksikan ke telapak kaki tikus (Owoyele BV et al., 2001). Namun

pernyataan Owoyale BV *et al* ini berbeda dengan hasil penelitian yang penulis dapat karena pada kelompok kontrol positif dimana tikus hanya diinjeksi carrageen saja dan diukur volume edemanya mulai menit 0 sampai menit 60, didapatkan hasil bahwa volume edema pada telapak kaki tikus mulai menunjukkan penurunan pada menit 30 dan terus menurun sampai menit 60. Artinya edema (inflamasi) mulai terjadi sesaat setelah telapak kaki tikus diinjeksi carrageen dan bertahan sampai menit 15 kemudian mulai menurun perlahan pada menit ke 30 dan seterusnya.

Pada penelitian ini didapatkan serbuk *Pineapple stem* dosis I (10 mg/kgBB) dan dosis III (40 mg/kgBB) menunjukkan efek antiinflamasi yang signifikan pada menit 15 ( $p=0,046$ ) ( $p=0,010$ ), menit 30 ( $p=0,011$ ) ( $p=0,005$ ), dan menit 45 ( $p=0,040$ ) ( $p=0,003$ ) serta pada menit 60 hanya bromelain dosis III yang menunjukkan efek antiinflamasi yang signifikan ( $p=0,000$ ) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hasil tersebut sesuai dengan pernyataan pada penelitian sebelumnya yang mengatakan bahwa *Pineapple stem* berfungsi sebagai antiinflamasi, proteolitik, menghambat agregasi platelet, dan menghambat sintesis prostaglandin (Ammon, 2002; Lemay *et al.*, 2004; Darshan and Doreswamy, 2004) serta menghambat migrasi leukosit dan menghambat induksi mediator proinflamasi (Engwerda *et al.*, 2001; Eckert *et al.*, 1999; Hale *et al.*, 2002). Pada penelitian sebelumnya, dinyatakan bahwa konsentrasi tertinggi bromelain dalam darah ditemukan satu jam setelah bromelain diberikan secara per oral. *Half life* bromelain adalah 6-9 jam dan konsentrasi dalam plasma 2,5-4 ng/ml setelah diberikan bromelain per oral dosis 8,6 gram per hari (White RR *et al.*, 1988; Castell JV, 1995).

Pada uji *Multivariate* dan *Post Hoc Test* didapatkan *Pineapple stem* dosis I (10 mg/kgBB) menunjukkan efek antiinflamasi yang signifikan dibandingkan dengan kontrol positif pada menit 15, 30, dan 45 setelah diberikan per oral. *Pineapple stem* dosis II (20 mg/kgBB) tidak didapatkan efek antiinflamasi yang signifikan, namun pada menit 60 dilihat dari gambar 1 didapatkan rata-rata efek antiinflamasinya dalam penurunan volume edema lebih baik dari *Pineapple stem* dosis I (10 mg/kgBB). *Pineapple stem* dosis III (40 mg/kgBB) menunjukkan efek antiinflamasi yang paling tinggi dan signifikan dibandingkan dengan *Pineapple stem* dosis I (10 mg/kgBB) dan dosis II (20 mg/kgBB), maupun kortikosteroid dilihat dari penurunan delta volume edema pada telapak kaki tikus (tabel 1 dan gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar dosis, maka semakin besar pula efek antiinflamasinya (lampiran 4) sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa bromelain dosis 10, 20, dan 40 mg/kgBB yang diberikan peroral menunjukkan presentasi inhibisi yang signifikan yakni 11,3%, 23,4%, dan 40,8%. Inhibisi maksimum sebesar 40,8% diobservasi pada dosis 40 mg/kgBB (Sudjarwo, 2005). Namun masih belum diketahui dengan pasti, apakah mekanisme *Pineapple stem* dalam menurunkan level prostaglandin (PGE<sub>2</sub>) dan tromboksan B<sub>2</sub> yang dapat menurunkan volume edema awal mulanya adalah dengan menghambat COX, karena pada studi literatur belum dijelaskan.

Ketiga dosis *Pineapple stem* jika dibandingkan dengan kortikosteroid, didapatkan perbedaan efek antiinflamasi yang signifikan dalam penurunan volume edema pada kaki tikus. Hal ini sesuai dengan uji *Multivariate* dan *Post Hoc Test* yang berarti bahwa efek antiinflamasi ketiga dosis *Pineapple stem* berbeda bermakna dengan kortikosteroid (lampiran 5), diduga pada satu jam pertama kortikosteroid yang mekanisme kerjanya dapat menghambat migrasi

makrofag dan mensupresi sintesis asam arakidonat yang dapat menurunkan produksi prostaglandin sehingga menyebabkan inflamasi (Laurence DR and Bennet PN, 1992; Zazuli 2012) belum mencapai konsentrasi puncak dan mekanisme serta masa kerjanya lambat, lebih dari waktu yang ditentukan sehingga belum menunjukkan efek maksimal. Selain itu dosis kortikosteroid 0,04 mg/ekor dengan asumsi berat tikus 200 gram yang diberikan pada tikus belum optimal. Hal ini sesuai dengan pernyataan penelitian sebelumnya bahwa pemberian obat Deksametason (kortikosteroid) peroral mula kerjanya tidak diketahui, namun mencapai kadar puncak setelah 1-2 jam dengan lama kerja 2-3 hari (Kee, Joyce L., 1993)

Dari fakta yang diperoleh pada hasil penelitian dan dari kajian teoritik yang telah diuraikan diatas, maka hipotesis yang mengatakan bahwa Enzim Bromelin pada *Pineapple Stem* (serbuk bonggol nanas) memiliki potensi yang sama dengan kortikosteroid sebagai antiinflamasi terhadap tikus model inflamasi yang diinduksi carrageen terbukti. Bahkan dari hasil penelitian menunjukkan efek *Pineapple stem* pada 1 jam pertama lebih baik dari pada kortikosteroid. Namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengukur rentang waktu dengan menambah waktu yang lebih lama dalam melakukan penelitian menggunakan kortikosteroid dan *Pineapple stem* secara bersama-sama untuk dapat melihat dan mengetahui kapan efek dan masa kerja dari kedua bahan obat tersebut mulai muncul dan menghilang. Selain itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek dosis *Pineapple stem* diatas 40 mg/kgBB dan memastikan mekanisme *Pineapple Stem* dalam menghambat COX.