

## EFEK PROTEKTIF EKSTRAK TERIPANG PASIR (HOLOTHURIA SCABRA) TERHADAP KEJADIAN INFLAMASI PADA MENCIT

Ahmad Tarmuji Putra<sup>1</sup>, Nurhidayati Nurhidayati\*<sup>2</sup>, Ni Made Amelia Ratna Dewi<sup>1,3</sup>, Legis Oktavina Saputri<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Mataram, Mataram, Indonesia.

<sup>2</sup> Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Mataram, Mataram, Indonesia

<sup>3</sup> Departemen Farmakologi, Farmasi Klinik dan Komunitas, Fakultas Kedokteran Universitas Mataram, Mataram, Indonesia

Whatsapp Number: 087865117385 (only for communication with editors, not published in article)

DOI: <https://doi.org/10.29303/sjp.v6i1.264>

### Article Info

Received :

Revised :

Accepted :

**Background:** Inflammation management aims to slow down the process of tissue damage that occurs in areas of inflammation, but the side effects of its use are stomach ulcers and damage to the kidneys so it is necessary to search for new anti-inflammatories with less potential side effects. Sea cucumbers have been well known as a tonic and medicinal drug in Chinese and Malaysian literature to treat many diseases, one of which is as an anti-inflammatory. This study aims to determine the protective effect of sea cucumber extract (*Holothuria scabra*) on carrageen-induced inflammatory events in mice.

**Method :** This research was a true experiment using the Pre-Post test control group design in vivo. Sea cucumber extract (*H. scabra*) given to mice which were induced by intraplantar carrageenan. The control group was given diclofenac sodium at a dose of 0,2 mg/20 g of mice body weight, while the treatment groups 1, 2 and 3 were 0.093 mg, 0.19 mg and 0.28 mg/20 grams of mice body weight, respectively administered intragastrically 30 minutes before induction. Inflammation induction method using Carrageenan-Induced Paw Edema. Measurement of % inhibition was carried out at 90 and 120 minutes. Hypothesis testing used the ANOVA test and continued with the LSD post hoc test.

**Results :** *H. scabra* extract had a protective effect against carrageenan-induced inflammation significantly at 90 and 120 minutes post-induction,  $p=0.021$  and  $p=0.001$  ( $p < 0.05$ ). There was no significant difference in the protective effect of extract (*Holothuria scabra*) had a protective effect against carrageenan-induced inflammation significantly at 90 and 120 minutes post-induction,  $p=0.021$  and  $p=0.001$  ( $p < 0.05$ ). There was no significant difference in the protective effect of diclofenac sodium with *H. scabra* extract doses of 0.093 mg and 0.19 mg at 90 minutes and a dose of 0.093 mg at 120 minutes.

**Conclusion :** *H. scabra* extract had a protective effect against carrageenan-induced inflammation significantly at 90 and 120 minutes post-induction. There was no significant difference in the protective effect of diclofenac sodium with *H. scabra* extract doses of 0.093 mg and 0.19 mg at 90 minutes and a dose of 0.093 mg at 120 minutes.

**Keywords:** inflammation, *H. scabra*, mice

## Pendahuluan

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia. Terentang dari Sabang hingga Merauke, Indonesia memiliki 17.499 pulau dengan luas total wilayah Indonesia sekitar 7,81 juta km<sup>2</sup>. Dengan luasnya wilayah laut yang ada, Indonesia memiliki potensi kelautan dan perikanan yang sangat besar (Pratama, 2020).

Potensi laut sebagai sumber pengembangan obat sangat besar. Potensi ini dikenal dengan istilah *worldwide marine pharmacy*. Makrotaksonomi keanekaragaman di perairan laut dan tawar jauh lebih tinggi daripada di darat. Saat ini, sekitar 27.000 senyawa kimia yang berbeda telah diisolasi dari laut dan banyak dari senyawa tersebut yang telah dibuktikan efek farmakologisnya (Khotimchenko, 2018).

Salah satu sumber potensial obat tersebut adalah invertebrata laut, yaitu teripang. Penelitian terkait senyawa dalam teripang dalam dekade terakhir meningkat. Senyawa aktif yang diidentifikasi secara kimia dari hewan ini cukup beragam, antara polisakarida seperti glikosaminoglikan (mukopolisakarida) termasuk glikan netral, kondroitin fukosilasi sulfat dan fucan sulfat, peptida, fosfolipid dan glikolipid, termasuk glikosfingolipid (serebrosida), asam lemak tak jenuh ganda, fenol, dan glikosida triterpen (saponin) (Khotimchenko, 2018).

Teripang sendiri mempunyai khasiat yang demikian banyak karena memiliki kandungan gizi yang lengkap (Nurhidayati, 2009). Teripang telah dikenal dengan baik sebagai obat tonik dan obat dalam literatur Cina dan Malaysia untuk mengobati sebagai hipertensi, asma, rematik, luka dan luka bakar. Penelitian terkait aktivitas biologis dan farmakologis dari teripang, yang diekstraksi dari spesies teripang yang berbeda membuktikan potensinya sebagai antiinflamasi (Bordbar, Anwar & Saari, 2011). Senyawa yang diduga berpotensi sebagai antiinflamasi di dalam teripang antara lain saponin (Bordbar, 2011), flavonoid (Sarkar A., Tripathi VD., Sahu RK. 2017), asam lemak yaitu eicosapentaenat (EPA), dan docosahexaenat (DHA) (Nurhidayati, 2009).

Mekanisme kerja saponin sebagai antiinflamasi adalah menurunkan aktivitas *cyclooxygenase-2* yang berperan dalam merangsang mediator inflamasi. Kemampuan senyawa tersebut sebagai

antiinflamasi ialah dengan menghambat aktivitas enzim siklooksigenase dalam mengkonversi asam arakidonat menjadi prostaglandin sebagai mediator inflamasi. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antiinflamasi adalah menghambat kerja enzim *phospholipase A2*, *cyclooxygenases*, dan *lipoxygenases*. (Nurhidayati, 2009).

Sebelumnya sudah ada beberapa peneliti yang melakukan penelitian yang serupa seperti penelitian Wiranto, 2016 yang meneliti efek antiinflamasi teripang secara *in vitro* dan Burhan, 2019 yang meneliti efek antiinflamasi teripang secara *in vivo* dan menggunakan hewan uji tikus, Berdasarkan data di atas, peneliti ingin melakukan penelitian efek protektif ekstrak teripang, khususnya teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kejadian inflamasi pada mencit dengan parameter edema.

## Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *true experiment* menggunakan desain penelitian *Pre-Post test control group design* secara *in vivo* menggunakan perlakuan ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) dan natrium diklofenak sebagai kontrol obat diberikan pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi karagen intraplantar. Teripang pasir diperoleh dari perairan Dompur, NTB. Ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) yang digunakan adalah ekstrak etanol 70 %. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bahan Alam, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Mataram, pada bulan Januari-Maret 2023. Pelaksanaan penelitian dilakukan dengan mempertimbangkan etika pada hewan coba.

Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) jantan dengan berat badan mencit 15-30 gram, usia 2-3 bulan, dengan kondisi sehat fisik yang diperoleh dari laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Unram. Mencit sebanyak 20 ekor dibagi atas 5 kelompok: kontrol (+), kontrol obat, kelompok perlakuan ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan dosis 0,093 mg, 0,19 dan 0,28 mg/20 gram berat badan mencit, setara dengan dosis penelitian Nurhidayati *et al* ; 2009. Kelompok kontrol obat diberikan suspensi natrium diklofenak dengan dosis 0,2 mg/20 gram berat badan mencit.

## Identifikasi Kualitatif Senyawa Aktif Uji Flavonoid

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil 2 mL ekstrak teripang pasir (*Holothuria Scabra*), kemudian dipanaskan kurang lebih 5 menit. Setelah dipanaskan ditambahkan dengan 0,1 gram logam Mg dan 5 tetes HCl pekat. Jika dalam larutan terbentuk warna kuning jingga sampai merah, maka positif mengandung flavonoid (Ergina, Nuryanti dan Pursitasari, 2014).

#### Uji Alkaloid

Pengujian alkaloid dilakukan menurut metode dragendroff. Pengujian dilakukan dengan mengambil 2 mL ekstrak teripang pasir (*Holothuria Scabra*). Setelah itu ditambahkan 5 tetes reagen Dragendroff. Jika dalam larutan terbentuk endapan jingga maka positif mengandung alkaloid (Ergina, Nuryanti dan Pursitasari, 2014).

#### Terpenoid

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil 2 mL ekstrak teripang pasir (*Holothuria Scabra*). Setelah itu, ditambahkan dengan 3 tetes HCl pekat dan 1 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Jika dalam larutan terbentuk warna merah atau ungu maka positif mengandung terpenoid (Ergina, Nuryanti dan Pursitasari, 2014).

#### Uji Saponin

Uji untuk mengetahui kadar saponin secara kualitatif dilakukan dengan metode yang dideskripsikan oleh Suharto et al. (2012). Uji kadar saponin secara kualitatif yang dilakukan merupakan Uji Busa, ekstrak teripang sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisikan aquades 10 ml, dikocok dan ditambahkan satu tetes larutan asam klorida 2 N. Tabungreaksi tersebut didiamkan dan diperhatikan ada atau tidak adanya busa stabil. Sampel mengandung saponin jika terbentuk busa stabil dengan ketinggian 1-3 cm selama 30 detik

#### Uji Steroid

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil 2 mL ekstrak teripang pasir (*Holothuria Scabra*). Setelah itu, ekstrak ditambahkan dengan 3 tetes HCl pekat dan 1 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Jika dalam larutan terbentuk warna hijau maka positif mengandung steroid (Ergina, Nuryanti dan Pursitasari, 2014).

#### Uji Tanin

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil 2 mL ekstrak teripang pasir (*Holothuria Scabra*) yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol, kemudian dipanaskan kurang lebih 5 menit. Setelah dipanaskan, ditambahkan beberapa tetes

FeCl<sub>3</sub> 1%. Jika dalam larutan terbentuk warna coklat kehijauan atau biru kehitaman maka positif mengandung tanin (Ergina, Nuryanti dan Pursitasari, 2014).

#### Pengukuran Persentase penghambatan Inflamasi

Volume tapak kaki mencit merupakan parameter inflamasi. Volume telapak kaki mencit pada semua kelompok diukur dengan platismometer sebelum pemberian bahan uji dan induksi. Persentase penghambatan inflamasi ditentukan dengan selisih hasil pengukuran edema sebelum induksi (menit ke 0) dengan pasca induksi per satuan waktu pengukuran pada menit ke 90 dan 120 yang dinyatakan dalam %. Persentase penghambatan edema dihitung dengan rumus sebagai berikut (Nurhidayati, et al, 2022):

$$\% \text{ Penghambatan menit ke } = \frac{(\text{Rerata K (+)} - \text{Rerata P})}{\text{Rerata (K+)}} \times 100 \%$$

Keterangan :

K (+) = Selisih volume kaki mencit setelah diinduksi dan sebelum induksi pada mencit yang diinduksi pada kelompok kontrol (+)

P = Selisih volume kaki mencit setelah diinduksi dan sebelum induksi pada mencit kelompok kontrol obat dan perlakuan.

Data yang diperoleh disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel dan grafik. Uji hipotesis menggunakan uji ANOVA

## Hasil

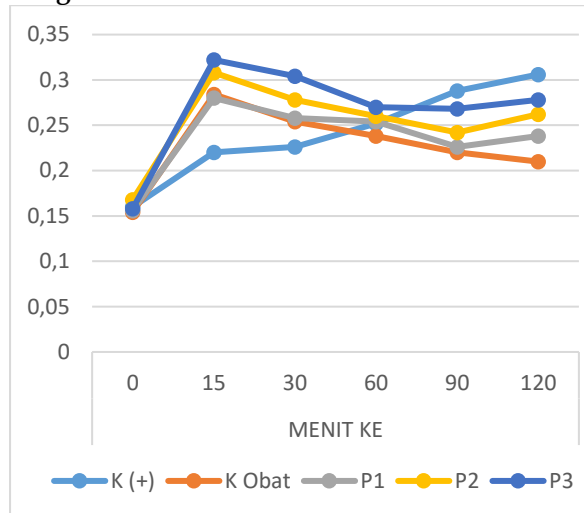
### Identifikasi Fitokimia

**Tabel 1. Hasil Identifikasi Fitokimia Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*)**

Senyawa	Hasil
Flavonoid	-
Alkaloid	-
Terpenoid	-
Saponin	+
Steroid	+
Tanin	-

Hasil identifikasi senyawa dalam ekstrak ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) didapatkan saponin dan steroid. Kedua senyawa ini berdasarkan literatur memiliki efek antiinflamasi.

**Penghambatan Inflamasi**



**Grafik 1. Rerata Volume Telapak Kaki Mencit Sebelum Induksi dan Pasca Induksi**

**Tabel 2. Rerata % Penghambatan Inflamasi Pada Menit ke 90 dan 120 Pasca Induksi**

Kelompok	Menit Ke	
	90	120
K Obat	48.44	61.64
P1	45.31	43.84
P2	42.19	35.62
P3	15.63	13.70

Hasil uji normalitas dengan *Spahiro Wilk* didapatkan hasil  $p > 0,05$ . Hasil uji hipotesis ANOVA pada menit ke 90 dan 120 didapatkan hasil berturut-turut 0.021 dan 0.001 ( $p < 0,05$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) memiliki efek protektif secara signifikan terhadap inflamasi yang diinduksi oleh karagen pada telapak kaki mencit.

**Tabel 3 Uji PostHoc LSD pada menit ke 90 dan 120**

Kelompok	Menit ke	Menit ke
	90	120
	Sig.	Sig.
Kontrol Obat - P1	0.776	0.052
Kontrol Obat - P2	0.571	0.007
Kontrol Obat - P3	0.006	0.000
P1-P2	0.776	0.347
P1-P3	0.011	0.007
P2-P3	0.019	0.052

Berdasarkan data pada tabel 3 di atas, % penghambatan inflamasi pada menit ke 90 antara kelompok obat dengan perlakuan P1 dan P2, didapatkan bahwa terdapat hasil yang tidak berbeda nyata. Hal ini berarti efek

obat, dalam hal ini natrium diklofenak dan ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) tidak berbeda nyata. Data % penghambatan inflamasi pada menit ke 120 antara kelompok obat dengan perlakuan P1, didapatkan bahwa terdapat hasil yang tidak berbeda nyata. Hal ini berarti efek obat, dalam hal ini natrium diklofenak dan ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) tidak berbeda nyata.

**Pembahasan**

Stress oksidatif dan inflamasi memiliki peran penting dalam banyak penyakit. Sel molekular seperti DNA, protein dan lipid dapat mengalami keursakan akibat stress oksidatif yang berlebihan. Stress oksidatif disebabkan salah satunya oleh aktifitas protein *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) yang akan menghasilkan produk *nitric oxide* (NO) (Durackova, 2010). Hewan laut memiliki senyawa bioaktif yang sangat beragam dan beberapa diantaranya memiliki kemampuan sebagai agen antiinflamasi. Penelitian yang dilakukan oleh Pranweerapaiboon, K et al (2020) menyatakan bahwa mekanisme antiinflamasi ekstrak *H. scarba* pada makrofag RAW264.7 yang distimulasi Lipopolisakarida (LPS) antara lain dengan menghambat proinflamasi sitokin mRNA dan protein, menekan produksi NO dengan menghambat iNOS, menekan regulasi ekspresi  $I\kappa\beta/NF-\kappa B$ . Efek ekstrak *H. scarba* dalam mengurangi inflamasi dipercaya disebabkan oleh kemampuannya untuk menekan level interleukin 6 (IL-6), NO, dan matrix metalloproteinase 9 (MMP9) (Kareh et al., 2018).

Hewan laut lain yang pernah diuji efektifitas kandungan saponin antara lain adalah bintang laut. Penelitian yang dilakukan oleh Baharara et al (2020) menemukan bahwa mekanisme kerja saponin dalam menekan inflamasi antara lain dengan melemahkan ekspresi dari marker inflamasi THP-1 pada aktiifasi makrofag yang distimulasi oleh Lipopolisakarida (LPS). Ekstrak saponin dari bintang laut juga menghambat produksi dari TNF-  $\alpha$  dalam sel THP-1 yang distimulasi oleh LPS tanpa mempengaruhi viabilitas sel. Saponin secara signifikan menekan ekspresi COX-2 yang diinisiasi oleh LPS dalam makrofag, yang memperlihatkan bahwa adanya efek antiinflamasi yang efektif pada kandungan saponin (Baharara, 2016).

Saponin adalah kandungan senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada tumbuhan dan hewan laut. Selain terdapat pada hewan kandungan saponin juga terdapat pada tumbuhan, seperti yang dijelaskan Nehal S, Patel (2015) bahwa kandungan saponin juga ditemukan pada tumbuhan *Trigonella foenum graecum* atau *fenugreek*, yang dilaporkan dapat menekan inflamasi dan memiliki potensi terhadap pengobatan rheumatoid artritis terutama pada fase akut. Tumbuhan lain yang memiliki kandungan saponin yang tinggi adalah *Pulsatilla chensis*. Zhong et al (2022) mengatakan bahwa, penelitian menemukan kandungan saponin pada *P. chensis* memiliki aktivitas antiinflamasi melalui mekanisme inhibisi produksi NO pada sel RAW 246,7 yang distimulasi oleh LPS, menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B yang distimulasi oleh TNF- $\alpha$ . Saponin AB4 yang terkandung dalam *P. chensis* juga memiliki efek perlindungan yang signifikan pada cedera ginjal akut yang diinduksi pada tikus dengan bekerja pada jalur NF- $\kappa$ B dan mengurangi TNF- $\alpha$ , IL1 $\beta$ , COX-2 dan iNOS.

Steroid merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan tinggi, lumut, algae, invertebrata dan biota laut (Bhat, 2009). Mekanisme kerja steroid dalam penelitian yang dilakukan secara in vitro (Noack, 2016) menyatakan bahwa pemberian steroid menghambat sitokin pro inflamasi, produksi IL-7 dan IL-6 menurun, tampak penurunan sekresi IL-1 $\beta$  dan INF- $\gamma$  pada pemberian steroid konsentrasi rendah (0.001 $\mu$ g/ml). Inhibisi TNF menyebabkan penurunan produksi IL-6 yang terlibat dalam aktivasi diferensiasi sel T, penurunan sekresi IL-6 menghasilkan penurunan IL-1 $\beta$  dan INF- $\gamma$ .

### Kesimpulan

Ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) memiliki efek proteksi terhadap inflamasi yang diinduksi oleh karagen secara signifikan pada menit ke 90 dan 120 pasca induksi. Tidak ada perbedaan yang signifikan efek proteksi kelompok kontrol obat (natrium diklofenak) dengan kelompok perlakuan P1 pada menit ke 90 dan 120. Tidak ada perbedaan yang signifikan efek proteksi kelompok kontrol obat (natrium diklofenak) dengan kelompok perlakuan P3 pada menit ke 120.

### Daftar Pustaka

1. Baharara, J., Amini E., Salek F. 2020, Anti-inflammatory properties of saponin fraction from (Spiny brittle star) *Ophiocoma erinaceus* (Müller and Troschel, 1842). Iranian Journal of Fisheries Sciences. 19(2) 638-652.
2. Bhat SV, Nagasampagi BA, Meenakshi S. 2009. Natural products: chemistry and application. New Delhi: Narosa Publishing House;.
3. Bordbar, S., Farooq, A., Nazamid, S. 2011. High-Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Foods-A Review. Marine Drugs Journal. 9: 1761-1805
4. Ďuračková Z. 2010. Some current insights into oxidative stress. *Physiol Res.*;59:459-469. doi:10.33549/physiolres.931844
5. Ergina, Siti Nuryanti dan Indarini Dwi Pursitasari, 2014, Uji KUALITATIF SENYAWA METABOLIT SEKUNDER PADA DAUN PALADO (*Agave angustifolia*) YANG DIEKSTRAKSI DENGAN PELARUT AIR DAN ETANOL, J. Akad. Kim. 3(3): 165-172
6. Khotimchenko, Y. 2018. Review Pharmacological Potential of Sea Cucumbers. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 1342; doi:10.3390/ijms19051342
7. Kareh, M., El Nahas, R., Al-Aaraj, L., Al-Ghadban, S., Naser Al Deen, N., Saliba, N., El-Sabban, M., & Talhouk, R. 2018. Anti-proliferative and anti-inflammatory activities of the sea cucumber *Holothuria polii* aqueous extract. *SAGE Open Medicine*, 6:205031211880954. doi: 10.1177/2050312118809541.
8. Noack M, Ndongo-Thiam N and Miossec P (2016) Evaluation of Anti-inflammatory Effects of Steroids and Arthritis-Related Biotherapies in an In Vitro Coculture Model with Immune Cells and Synoviocytes. *Front. Immunol.* 7:509. doi: [10.3389/fimmu.2016.00509](https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00509).
9. Nurhidayati, Isbandiati, E., Basori, A. 2009. Efek protektif teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap hepatotoksisitas yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>), Penelitian farmakologi eksperimental pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Tesis. Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar,

- Program Pascasarjana, Universitas Airlangga.
10. Nurhidayati, Wedayani, A. A. A. N., Legis Ocktaviana Saputri, L.O. (2023). Penuntun Praktikum Farmakologi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Mataram.
  11. Pratama, O. 2020. Konservasi Perairan Sebagai Upaya menjaga Potensi Kelautan dan Perikanan Indonesia. Direktorat Jenderal Pengelolaan Ruang Laut. <https://kkp.go.id/djprl/artikel/21045-konservasi-perairan-sebagai-upaya-menjaga-potensi-kelautan-dan-perikanan-indonesia>
  12. Pranweerapaiboon, K.; Apisawetakan, S.; Nobsathian, S.; Itharat, A.; Sobhon, P.; Chaithirayanon, K. 2020. An ethyl-acetate fraction of *Holothuria scabra* modulates inflammation in vitro through inhibiting the production of nitric oxide and pro-inflammatory cytokines via NF-kappaB and JNK pathways. *Inflammopharmacology*, 28, 1027-1037.
  13. Sarkar A., Tripathi VD., Sahu RK. 2017. Evaluation of Anti-inflammatory and Anti-arthritis Activity of Isolated Fractions from *Bauhinia purpurea* Leaves Extracts in Rats. *UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences* Vol. 5(1), 47-58