

Uji Aktivitas Antiinflamasi Minyak Ikan pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus L.*) yang Diinduksi Karagenin

Antiinflammatory Study of Fish Oil in Rats (*Rattus Norvegicus L.*) Induced by Carragenan

Ledy Laila Palestin*, Angelica Kresnamurti

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hang Tuah, Surabaya

Received: 20/8/2020

Accepted: 7/9/2020

Published: 26/9/2020

*Korespondensi: ladyपालेस्ती@gmail.com

Abstract

Inflammation is a normal response to protect tissue from damage caused by the trauma of the physical, chemical, or microbiological. Sodium diclofenac is a major drug prescribed. Prevalence of side effect is $\pm 20\%$ include gastrointestinal bleeding & peptic ulcer. Indonesia has many natural marine resources such as fish oil. This study aims to determine the activity of anti-inflammatory fish oil by the mercury plethysmometer. The research was carried out in vivo use of test animals a white male strains Wistar (*Rattus norvegicus L.*). The effects of anti-inflammatory can be seen from the calculation of the volume of edema feet pre and 30 minutes after the induction karagenin 1 % in subplantar. Twent four rats were divided randomly into six groups of the control group, the control of the negative, positive, and the oil of salmon (dose 40mg/kg weight' 50mg/kg weight and 60mg/kg'weight) orally. The calculation % of the inflammatory the control of the positive (Emulsion diclofenac with dose 5mg/kg '), and the oil of salmon (The dose 40mg/kg weight ' 50mg/kg weight and 60mg/kg weight) of 49, 97 %; 22, 22 % ; 33, 28 % and 44, 35 %. The results showed the value of ED_{50} of salmon by 65.3280 mg/kg bb. It indicates that salmon oil has anti-inflammatory activity on a white male strains Wistar (*Rattus norvegicus L.*).

Keywords: fish oil, omega-3, salmon oil, anti-inflammatory

Abstrak

Inflamasi merupakan proses yang terjadi setelah adanya trauma yang disebabkan oleh mikrobiologi, zat kimia atau fisik. Salah satu obat antiinflamasi yang beredar dipasaran dan banyak diresepkan yaitu natrium diklofenak. Lebih dari 20% pasien mengalami perdarahan gastrointestinal dan ulserasi lambung yang merupakan efek samping dari NSAID. Minyak ikan salmon dapat dengan mudah diperoleh dari hasil laut yang beragam dan melimpah. Tujuan penelitian adalah untuk menganalisis aktivitas antiinflamasi akut minyak ikan salmon dengan alat *pletismometer* air raksa. Penelitian ini dilakukan secara in vivo yang diujikan pada tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus L.*). Efek antiinflamasi dilihat dari perhitungan volume edema kaki tikus dilakukan sebelum dan 30 menit sesudah pemberian induksi karagenin 1 % secara subplantar. Dua puluh empat ekor tikus dibagi secara acak menjadi enam kelompok uji yaitu kelompok kontrol, negatif, positif, dan kelompok uji (dosis 40mg/kg BB, 50mg/kg BB dan 60mg/kg BB) secara oral. Hasil perhitungan % hambatan inflamasi kontrol positif (Emulsi natrium diklofenak Dosis 5mg/kg BB), dan kelompok minyak ikan salmon (Dosis 40mg/kg BB, 50mg/kg BB dan 60 mg/kgBB) sebesar 49,97%; 22,22%; 33,28% dan 44,35%. Hasil penelitian menunjukkan nilai ED_{50} minyak ikan salmon sebesar 65.3280 mg/kgBB. Hal tersebut menunjukkan bahwa minyak ikan salmon mempunyai aktivitas antiinflamasi pada sampel tikus jantan (*Rattus norvegicus L.*).

Kata kunci: minyak ikan, omega-3, minyak salmon, antiinflamasi

PENDAHULUAN

Inflamasi merupakan proses protektif terhadap luka jaringan yang disebabkan oleh infeksi, trauma fisik, atau zat kimia. Inflamasi adalah mekanisme tubuh untuk melawan organisme, menghancurkan zat iritan, dan membantu memperbaiki jaringan yang rusak. Inflamasi akut merupakan inflamasi yang terjadi karena serangan mendadak, sedangkan inflamasi kronis disebabkan oleh trauma selama beberapa minggu dan diikuti proliferasi jaringan ikat (Katzung, 2018).

Salah satu obat antiinflamasi yang beredar dipasaran dan banyak diresepkan yaitu natrium diklofenak. Efek samping dialami pada lebih dari 20% pasien meliputi pendarahan gastrointestinal, dan ulserasi lambung. Maka dari itu, untuk menghindari efek samping tersebut dicari efek antiinflamasi dari sumber daya alam bahari khususnya ikan.

Ikan merupakan salah satu kekayaan laut Indonesia yang meliputi sepertiga dari spesies ikan di dunia. Minyak ikan dapat dihasilkan dari perebusan ikan atau sisa pembuatan tepung. Minyak ikan mengandung PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acid*) khususnya omega-3 yaitu EPA dan DHA (KKP, 2015; Sahena et al., 2010). Beberapa penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa minyak ikan memiliki aktivitas analgesik dan antioksidan (Gammone, 2018; Faizah, 2019).

EPA dan DHA dalam ikan diperoleh karena ikan mengkonsumsi alga yang memiliki kedua asam lemak tersebut (Haris, 2004). EPA merupakan senyawa metabolit ALA yang dihasilkan pada tubuh manusia melalui reaksi enzimatik desaturasi. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa EPA memiliki manfaat dalam menurunkan risiko penyakit jantung koroner, sebagai antiplatelet, menurunkan kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*). Sedangkan, DHA berperan dalam tumbuh-kembang otak serta indera penglihatan.

Tikus merupakan hewan uji untuk aktivitas antiinflamasi dengan berbagai stimulan kimia sehingga timbul edema. Salah satu stimulan untuk induksi edema adalah karagenin (Necas, 2013).

Alasan penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan minyak ikan salmon sebagai antiinflamasi pada tikus jantan galur Wistar serta meningkatkan nilai ekonomis minyak ikan yang berasal dari sumber daya alam bahari.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan penelitian meliputi bahan uji minyak ikan salmon (PT. Radiant Sentral Nutrindo) dengan dosis 40, 50 dan 60mg/kg bb, natrium diklofenak 50 mg GENERIK, karagenin SIGMA (P.A) dan pengemulsi tween 80 (P.A) dan span 80.

Alat

Penelitian ini dilakukan menggunakan peralatan, antara lain timbangan hewan, timbangan analitik, penangas air, jarum suntik, *syringe* 1 ml, *stopwatch*, *pletismometer* air raksa (*ugo basile*).

Metode

Dosis Minyak Ikan

Minyak ikan salmon yang digunakan adalah dosis 40 mg/kgBB; 50 mg/kgBB; dan 60 mg/kgBB. Berat tikus yang akan digunakan adalah 110-150 gram. Volume minyak ikan diberikan peroral 1 ml yang didasarkan pada volume normal lambung tikus yaitu 3-5 ml.

Persiapan Hewan Uji

Tikus jantan diaklimatisasi selama 1 (satu) minggu dengan cara hewan dimasukkan di kandang dan diletakkan di lingkungan penelitian. Tikus yang dinyatakan sehat dibagi secara acak. Setiap kelompok terdiri dari empat ekor tikus.

Pengelompokan Hewan Uji

Pada penelitian ini pengelompokan hewan uji dibagi menjadi empat yaitu kelompok control (KK), kontrol positif (KP),

kontrol negatif (KN), dan perlakuan (P1-P3) dengan masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus.

Prosedur Uji Antiinflamasi

Uji antiinflamasi pada penelitian ini menggunakan metode *Winter* yang dimodifikasi. Langkah pertama tikus dipuaskan \pm 12 jam, air minum tetap diberikan. Sebelum diberikan perlakuan, dilakukan pengukuran volume kaki kanan belakang masing-masing tikus menggunakan *plestismometer*. Selanjutnya tikus pada masing-masing kelompok diberi perlakuan sebagai berikut: Pada Kelompok KK diberi larutan Tween 80 dan Span 80 5% sebanyak 1 mL/200g BB secara peroral tanpa pemberian induksi karagenin 1%. Kelompok KN diberi larutan Tween 80 dan Span 80 5% sebanyak 1 mL/200 g BB secara peroral sebagai kontrol negatif. Kelompok KP diberi suspensi natrium diklofenak secara peroral dengan dosis 5 mg/kg BB sebagai kontrol positif. Kelompok P1 diberi minyak ikan dosis 40mg/kg BB secara peroral. Kelompok P2 diberi minyak ikan dosis 50mg/kg BB secara peroral. Kelompok P3 diberi minyak ikan dosis 60mg/kg BB secara peroral.

Pada menit ke-30 disuntikkan sediaan karagenin 1% pada telapak kaki kanan belakang tikus secara subplantar sebanyak 0,1 ml. Selanjutnya pada menit ke-60, 90, 120, 150 dan 180 setelah penyuntikan karagenin 1%, volume kaki kanan belakang tikus diukur menggunakan *plestismometer* air raksa dengan cara mencelupkan telapak kaki kanan belakang tikus ke dalam alat tersebut sampai tanda yang telah dibuat dan hasilnya dicatat.

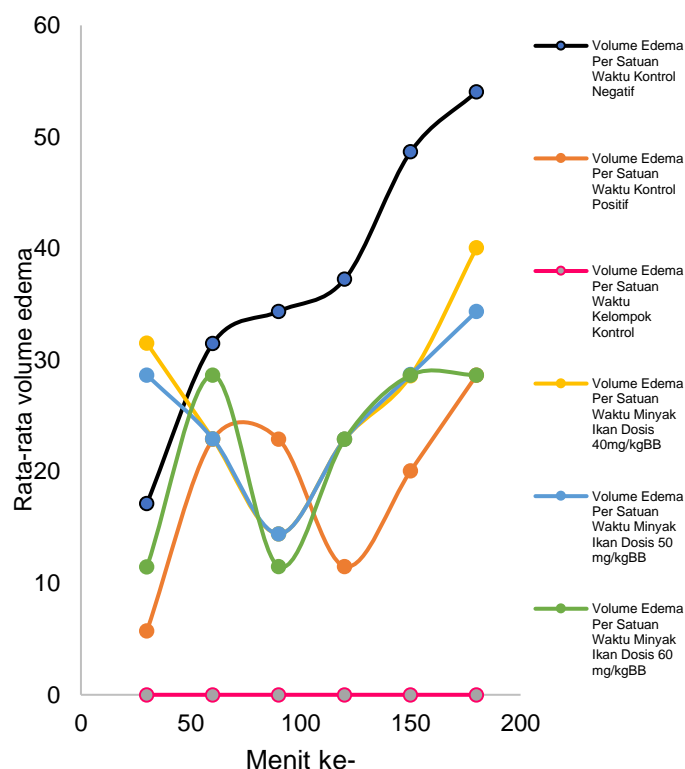
Etika Penelitian (*Ethical Clearance*)

Penelitian ini telah diujikan pada Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya untuk mendapatkan *ethical clearance* dengan No.03. F. 2/HC/EC/KEPUHT/2018 pada tanggal 06 Juni 2018 dengan menerapkan prinsip 3R dalam protokol penelitian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hewan coba dikondisikan mengalami edema pada kaki belakang hewan uji dengan induksi karagenin 1%. Edema yang terbentuk kemudian akan diukur ketebalannya menggunakan *plestismometer* air raksa. Karagenin dipilih sebagai zat inflamator karena memiliki manfaat khusus sebagai senyawa iritan yang digunakan pada pengujian obat antiinflamasi dan merupakan senyawa penginduksi inflamasi akut pada hewan uji tanpa menyebabkan kerusakan pada kaki hewan uji yang meradang.

Karagenin menginduksi edema dengan tiga fase. Rilis mediator histamin dan serotonin terjadi pada fase pertama yang terjadi sampai menit ke-90, kemudian bradikinin dirilis pada fase kedua (1,5 hingga 2,5 jam setelah induksi). Di fase terakhir terjadi pelepasan prostaglandin pada 3 jam setelah induksi dan bertahan pada volume maksimal pada jam ke-5 setelah induksi (Morris, 2003). Pembuatan sediaan karagenin 1% ditambahkan dengan gom arab/PGA sebagai suspending agent sebanyak 1:1. Hal tersebut bertujuan untuk mengikat sediaan karagenin yang telah diinjeksikan secara subplantar pada hewan uji agar tidak diabsorpsi ke dalam pembuluh darah di kaki dan mempertahankan edema yang dihasilkan.



Gambar 1. Rata-rata volume edema per satuan waktu

Pada kelompok kontrol pemberian minyak ikan salmon dan natrium diklofenak terlihat efek antiinflamasi mulai bekerja dari menit ke 60. Memasuki menit ke- 120 terjadi kenaikan kembali volume edema pada telapak kaki hewan coba. Hasil ini membuktikan bahwa karagenin yang digunakan dapat menyebabkan edema yang sinergis dengan mekanisme pelepasan mediator inflamasi prostaglandin pada 3 jam setelah pemberian induksi serta edema masih bertahan pada volume maksimal pada 5 jam setelah injeksi karagenin. Dan dapat dikarenakan natrium diklofenak memiliki waktu paruh yang cukup singkat sehingga natrium diklofenak harus diberikan dalam beberapa dosis perhari dan kadar obat ini 97% terikat pada protein plasma dan diakumulasi di cairan sinovial setelah pemberian pada hewan coba (Wilmana, 2007).

Pada gambar 1 dapat dilihat pada menit ke 120 hingga 180 terjadi kenaikan

volume edema pada kelompok kontrol (+). Sedangkan pada pengamatan menit 180 penghambatan paling rendah terjadi pada kelompok kontrol negatif karena tidak ada pemberian obat pada penelitian ini. Pemberian minyak ikan salmon dengan dosis sebesar 60mg/kg BB memiliki potensi paling besar dalam menghambat edema. Hal ini dapat diartikan bahwa dosis 60mg/kg BB memiliki aktivitas antiinflamasi terbesar.

Kelompok kontrol (+) memiliki kemampuan menghambat edema tertinggi pada menit ke-120 sebesar 49,97% (Tabel 1). Kelompok perlakuan minyak ikan salmon dosis 40 mg/kg BB diperoleh puncak hambatan edema pada menit 90 dan paling kecil pada pengamatan menit ke-180. Pada kelompok perlakuan minyak ikan salmon dosis 50mg/kg BB diperoleh persentase hambatan inflamasi tertinggi pada menit ke-90 yaitu 33,28 % dan menurun mulai menit 120 sampai 180. Kelompok uji 60mg/kg BB menunjukkan

hambatan inflamasi paling tinggi terjadi pada menit 90 sebesar 44,35 %. Dari data yang diperoleh ini dapat dilihat potensi antiinflamasi dari minyak ikan dengan adanya peningkatan dosis. Seperti yang

dilakukan pada penelitian sebelumnya bahwa minyak ikan memiliki efek antiinflamasi pada tikus jantan dengan dosis 60 mg/Kg BB dengan metode jangka sorong (Faizah, 2019).

Tabel 1. Rata-rata persentase hambatan inflamasi pada kaki tikus putih jantan galur Wistar

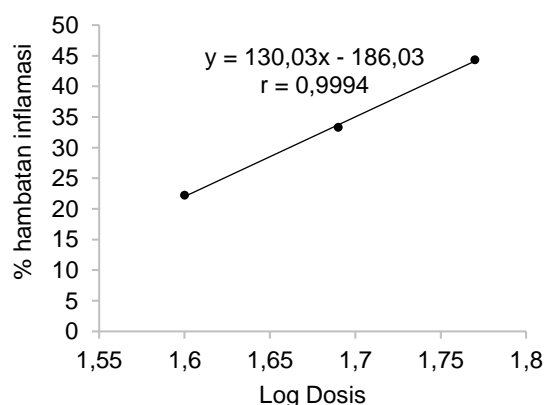
Kelompok percobaan	% Hambatan Inflamasi
Kontrol positif	49,97 %
Minyak ikan dosis 40mg/kg BB	22,22 %
Minyak ikan dosis 50mg/kg BB	33,28 %
Minyak ikan dosis 60mg/kg BB	44,35 %

Tabel 2. ED₅₀ Aktivitas Antiinflamasi Minyak Ikan Salmon

Kelompok	ED ₅₀ (mg/kg BB)
Minyak ikan salmon	65,3280 mg/kgBB

ED₅₀ merupakan dosis efektif yang dapat menghasilkan hambatan inflamasi sebesar 50% pada populasi hewan coba. Penentuan ED₅₀ dapat dihitung berdasarkan data dosis dan persentase edema melalui analisis regresi linier antara dosis terhadap persentase hambatan

inflamasi. Pada tabel 2 menunjukkan dosis 65,33 mg/kg BB minyak ikan salmon dapat dikatakan mampu menghambat inflamasi sebesar 50% populasi pada hewan coba. Perhitungan ED₅₀ berdasarkan kurva yang dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva Hubungan Antara Log Dosis vs % Hambatan Inflamasi Minyak Ikan Salmon

Dari hasil penelitian diatas, baik perbandingan % Edema rata-rata pada tiap-tiap kelompok maupun perbandingan jumlah respon tikus pada enam kelompok perlakuan (Gambar 1.) dapat terlihat bahwa cara kerja dari minyak ikan salmon dan natrium diklofenak memiliki mekanisme penghambatan inflamasi yang hampir sama.

KESIMPULAN

Minyak ikan salmon mempunyai potensi antiinflamasi pada dosis 60mg/kg BB dengan ED₅₀ yang dimiliki oleh minyak ikan salmon sebagai antiinflamasi sebesar 65,3280 mg/ kg BB.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada kepada Ersanda dan laboran Prodi Farmasi FK Universitas Hang Tuah atas bantuan selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Faizah, A.K., Andhiarto, Y. and Riwanti, P., 2019. In Vivo Analgesic Activity of Omega-3 on Mice Induced Peripheral Pain. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 12(2), pp.961-963.
- Faizah, A.K. and Kresnamurti, A., 2019. Evaluation of Antiinflammatory Activity of Marine Omega-3 in Rats. *Indonesian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 2(2), pp.1-5.
- Gammone, M.A., Riccioni, G., Parrinello, G. and D'Orazio, N., 2019. Omega-3 polyunsaturated fatty acids: benefits and endpoints in sport. *Nutrients*, 11(1), p.46.
- Haris, W.S, 2004. *Review: Fish Oil Supplementation: Evidence For Health Benefits*, *Cleveland Clinic J. of Medicine*, 71(3): p 208-219.
- Katzung, B.G, 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi XII*. Alih Bahasa: Dripta Sjabana dkk. p 432-455.
- KKP, 2016. *Laporan Kinerja Kementerian Kelautan dan Perikanan 2015*, Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia, Jakarta. p 132-136.
- Morris, Christoper J, 2003. *Carrageenan-Induced Paw Edema in the Rat and Mouse*. In P. G. Winyard and D. A. Willoughby (Ed.). *Methods in Molecular Biology, Vol. 225: Inflammation Protocols*. Totowa, NJ: Humana Press Inc. p 115-121.
- Necas, J., dan Bartosikova, L., 2013. Carragenan: a review. *Veterinari Medicina*, 58, p 187-205.
- Sahena F, Zaidul ISM, Jinap S, Jahurul MHA, Khatib A, Norulaini NAN, 2010. *Fatty Acid Composition Of Fish Oil Extracted From Different Parts Of Indian Mackerel (Rastrelliger Kanagurta) Using Various Techniques Of Supercritical CO₂ Extraction*. *Food Chemistry* 120: p 879-885.
- Wilmana, P. F, 2007. Analgesik-Antipiretik, Analgesik Anti-Inflamasi Nonsteroid Dan Obat Gangguan Sendi Lainnya, in: Gunawan, S. G., (Ed.), *Farmakologi dan Terapi*, 5th ed., Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia Jakarta, p.237-239