

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kamboja Jepang (*Adenium obesum*)

2.1.1 Definisi Kamboja Jepang

Tumbuhan kamboja jepang berasal dari wilayah padang pasir di benua Afrika. Kamboja jepang dikenal sebagai tumbuhan dekoratif dan ditanam di beberapa wilayah yang beriklim lembab. Tanaman kamboja jepang tumbuh baik di media berbatu dan berpasir (Hossain, 2018). Tanaman kamboja merupakan satu contoh tanaman yang umum dimanfaatkan menjadi obat tradisional. Tanaman kamboja termasuk tanaman hias yang berkhasiat menjadi obat. Daun kamboja juga mengandung flavonoid, polifenol dan alkaloid. Manfaat flavonoid antara lain untuk melindungi struktur sel, memiliki hubungan sinergis dengan vitamin C (meningkatkan efektivitas vitamin C), mencegah keropos tulang, antibiotik dan sebagai antiinflamasi. Pengobatan tradisional yang dihasilkan dari tanaman kamboja dapat diperoleh dari semua bagian tanaman tersebut, seperti pada bunga, air yang didapatkan setelah merebus bunga kamboja kering dapat dimanfaatkan menjadi obat batuk, obat penurun demam, melancarkan pencernaan, maupun dimanfaatkan sebagai obat sakit kulit dan kudis. Klika, daun, kulit dan batang kamboja bermanfaat sebagai pencahar, antiinflamasi serta mampu menangkal atau meredam dampak radikal bebas (Ramli et al., 2015).

2.1.2 Klasifikasi Kamboja Jepang



Gambar 2.1. a).Tumbuhan Kamboja jepang. b) Daun Kamboja jepang

Kingdom : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Ordo : Gentianales
 Famili : Apocynaceae
 Genus : *Adenium*
 Spesies : *Adenium obesum* (Hossain, 2018).

2.1.3 Morfologi Kamboja Jepang

Kamboja Jepang memiliki akar utama yang berdaging, dan batang yang membesar di pangkal mencapai diameter satu meter. Tinggi tanaman sekitar dua hingga empat meter. Kulit batang kayu berwarna kuning muda, kemudian berubah menjadi abu-abu dan cokelat, tekstur halus, terdapat getah yang lengket. Daun tersusun melingkar dan berkumpul di ujung ranting. Tanaman menunjukkan variasi sifat bunga tergantung pada faktor lingkungan seperti curah hujan dan suhu, Bentuk ukuran dan warna bunga 6 sangat beragam tergantung habitat tempat tanaman tumbuh (Hossain, 2018).

2.1.4 Kandungan Senyawa Kamboja Jepang

Kamboja memiliki kandungan senyawa flavonoid, polifenol dan alkaloid yang tepatnya terletak pada bagian daunnya. Senyawa flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang berpotensi besar sebagai anti inflamasi dengan menghambat beberapa enzim seperti aldose reduktase, xanthine oksidase phosphodiesterase, Ca^{2+} ATPase, lipooxygenase dan siklo. (Nita et al., 2023). Kamboja memiliki kandungan getah putih yang mengandung senyawa-senyawa seperti damar, kautsuk, dan triterpenoid. Getah ini memiliki sifat racun dan dapat mematikan kuman, sehingga dapat digunakan sebagai obat sakit gigi, obat luka, dan pengobatan frambusia. Namun, perlu diingat bahwa getah ini dapat menyebabkan kebutaan jika mengenai mata. Kulit batang kamboja juga dapat digunakan untuk menghilangkan rasa sakit pada telapak kaki. (Safita et al., 2020).

2.1.5 Manfaat Farmakologi

Tanaman tersebut mengandung beberapa kelompok senyawa dengan aktivitas biologis yang berbeda. Di wilayah Teluk, tanaman tersebut digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit. Secara tradisional, berbagai bagian tanaman yang dipilih digunakan oleh masyarakat Oman untuk mengobati penyakit kelamin, luka, penyakit kulit, sakit kepala, nyeri otot, kutu sendi dan nyeri (Hossain, 2018). Tanaman kamboja merupakan bahan obat alternatif, seluruh bagian dari tanaman kamboja dapat digunakan dalam pengobatan tradisional. Bagian batang dan daun

kamboja merupakan bagian yang paling sering dimanfaatkan karena adanya kandungan flavonoid dan alkaloid (Yayun et al., 2015)

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhtarini, 2014). Proses ekstraksi senyawa bioaktif dari tumbuhan melibatkan tahapan pencucian, pengeringan, penggilingan, dan ekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai. Pelarut yang digunakan tergantung pada sifat senyawa yang ingin diekstrak, seperti metanol untuk senyawa hidrofilik, diklorometana untuk senyawa lipofilik, dan heksana untuk menghilangkan klorofil. (Fonmboh et al., 2020).

Jenis pelarut dalam ekstraksi, dapat mempengaruhi perolehan kadar zat aktif dari tumbuhan. Maka dari itu, pemakaian pelarut yang terbaik akan semakin mempertinggi optimalisasi dalam pengekstraksi sampel (Yuliani & Rasyid, 2019).

2.3 Inflamasi

2.3.1 Definisi Inflamasi

Inflamasi merupakan respon yang diberikan tubuh saat cedera atau terjadinya kerusakan jaringan sebagai upaya perlindungan terhadap tubuh, bertujuan untuk menghancurkan atau mengurangi agen/jaringan yang cidera (Latief et al., 2021). Inflamasi merupakan suatu respon protektif setempat yang ditimbulkan oleh kerusakan pada jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia yang merusak, atau zat mikrobiologik (Ramadhani & Sumiwi, 2016).

1.3.2 Tanda – Tanda Inflamasi

Inflamasi dapat menyertai berbagai penyakit ringan sampai berat, terkadang inflamasi dianggap sebagai suatu penyakit, namun sebenarnya inflamasi merupakan bentuk nyata dari kerja respon imun. Respon tadi menyebabkan timbulnya reaksi radang seperti bengkak, rasa nyeri, warna merah, dan gangguan fungsi jaringan, sehingga terjadinya inflamasi (Fратиwi et al., 2022). Aktivitas sel dan mediator inflamasi menyebabkan timbulnya tanda inflamasi seperti eritema (kemerahan), edema (pembengkakan), panas, nyeri dan hilangnya fungsi. Kemerahan muncul akibat dari *redundantly* (jumlah berlebih) aliran darah pada daerah yang mengalami cedera, diikuti oleh panas tubuh sebagai bentuk respon inflamasi, dan munculnya edema/pembengkakan. Hal ini dipengaruhi akibat adanya pengiriman cairan dan sel- sel tertentu dari sirkulasi darah ke intestinal, dan

menimbulkan rasa nyeri (penekanan jaringan akibat edema) (Latief et al., 2021).

2.3.3 Mekanisme Terjadinya Inflamasi

Inflamasi terjadi karena adanya mediator yang mengganggu kerja suatu jaringan sehingga menimbulkan respons terhadap mediator tersebut terdapat dua mekanisme terjadinya inflamasi: pertama, merusak lapisan epitel secara langsung; kedua, merangsang respons imunitas baik non spesifik maupun spesifik (Nuredis et al., 2024). Mekanisme terjadinya inflamasi melibatkan suatu proses yang kompleks yang disertai dengan respon tubuh yang dapat melepaskan suatu penanda inflamasi atau mediator kimiawi. Mediator-mediator tersebut disebut juga sebagai sitokin proinflamasi diantaranya interleukin-1 (IL-1), IL-6, IL-12, IL-18, tumor necrosis factor- α (TNF- α), dan tumor necrosis factor- β (TNF- β). Dimana sitokin proinflamasi ini akan menimbulkan edema, bengkak, kemerahan, sakit, gangguan fungsi tubuh yang terkena merupakan ciri umum dari inflamasi (Fratiwi et al., 2022).

2.3.4 Jenis – Jenis Inflamasi

a) Inflamasi Akut

Inflamasi akut merupakan respons biologis tubuh terhadap adanya kerusakan jaringan, cedera, infeksi ataupun paparan senyawa iritan sehingga diperlukan alternatif antiinflamasi dari bahan alam (F. S. Putri et al., 2024). Inflamasi akut merupakan respon

cepat terhadap luka jaringan atau pembuluh darah yang terjadi dengan onset yang cepat. Durasinya pun relatif singkat, dari beberapa menit hingga beberapa hari. Respon ini dapat dipicu oleh berbagai stimulus seperti infeksi, reaksi imun, trauma, cedera fisik, bahan kimia dan nekrosis jaringan. Tujuan utama inflamasi akut adalah untuk menghilangkan agen penginfeksi dan mencegah perluasan kerusakan jaringan. Respon inflamasi akut memiliki dua stase yaitu vaskular dan selular. Stase vaskular ditandai dengan peningkatan aliran darah (vasodilatasi) dan peningkatan permeabilitas vaskular sehingga memungkinkan protein plasma untuk meninggalkan sirkulasi. Stase selular melibatkan pengeluaran leukosit (umumnya neutrofil) dari mikrosirkulasi dan akumulasinya pada jaringan yang terinfeksi atau terluka (Utami et al., 2011).

b) Inflamasi Kronik

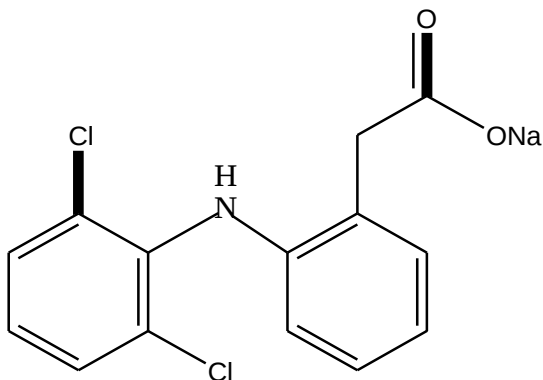
Inflamasi kronik memiliki durasi yang lebih lama (hari hingga tahun). Inflamasi kronis dapat bersifat berbahaya. Tipe dari inflamasi kronik ditentukan oleh peningkatan limfosit dan makrofag yang berhubungan dengan proliferasi vaskular dan fibrosis, respon ini biasanya berkaitan dengan proliferasi pembuluh darah (angiogenesis), nekrosis jaringan dan fibrosis (luka) (Utami et al., 2011). Penyakit kronik tersebut termasuk diantaranya diabetes melitus, kanker, penyakit kardiovaskuler, dan penyakit neurodegeneratif (Setiawan & Ernawati, 2024).

2.4 Golongan Obat Antiinflamasi

Obat anti inflamasi non-steroid adalah golongan obat anti nyeri yang sering dan banyak diresepkan dan paling efektif untuk mengurangi nyeri, seperti mengontrol rasa sakit yang disebabkan oleh inflamasi reumatik (Hanifah et al., 2021). Penggunaan obat golongan steroid secara sistemik sebagai antiinflamasi dalam waktu yang lama justru memberikan efek samping berupa penurunan sintesis glukokortikoid endogen, menurunkan respon imun tubuh terhadap infeksi, osteoporosis, moonface dan hipertensi. Penggunaan obat antiinflamasi nonsteroid (OAINS) secara sistemik dalam jangka waktu yang lama juga dapat memberikan efek samping berupa gangguan saluran pencernaan seperti ulkus peptik, analgesik nephropathy, mengganggu fungsi platelet dan menghambat induksi kehamilan (Sukmawati et al., 2015).

2.5 Natrium Diklofenak

Natrium diklofenak merupakan golongan NSAID (Non Steroid Anti - Inflammatory Drugs) derivat sederhana asam fenil asetat. Sebagai salah satu jenis obat NSAID natrium diklofenak memiliki efek analgesik, antirematik, antipiretik, dan antiinflamasi (Zubaydah siti et al., 2022). Natrium diklofenak digunakan untuk pengobatan osteoarthritis, ankylosing spondylitis, dan pirai. Namun, natrium diklofenak menyebabkan beberapa efek samping seperti nyeri gastrointestinal, pendarahan gastrointestinal, dan ulserasi gastrik digunakan per oral (Nathania & Rusmalina, 2024).



Gambar 2.2 Struktur Kimia Natrium Diklofenak (Hastika et al., 2024).

2.6 Stabilitas Membran Sel Darah Merah

Stabilisasi dari sel darah merah digunakan sebagai metode untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi secara *in vitro*. Hal ini dikarenakan sel darah merah mirip dengan membran lisosom yang dapat mempengaruhi proses inflamasi sehingga stabilitas lisosom penting dalam membatasi respon inflamasi, dengan cara mencegah pelepasan enzim dari dalam lisosom selama proses inflamasi berlangsung. Dengan demikian, stabilisasi sel darah merah yang diinduksi dengan larutan hipotonik dapat digunakan sebagai ukuran untuk mengindikasikan stabilisasi dari membran lisosom (Zaputri et al., 2022). Stabilisasi membran sel darah merah juga dapat digunakan untuk mengukur suatu aktivitas antiinflamasi. Saat larutan uji diinduksi dengan larutan hipotonis, membran sel darah merah dan membran lisosom akan pecah. Pecahnya membran tersebut menyebabkan stress oksidatif yang dapat mengganggu stabilisasi membran sel. Stress oksidatif menyebabkan oksidasi lipid dan protein sehingga memicu kerusakan membran yang ditandai dengan terjadinya hemolisis (Wahdaniah et al., 2023).

2.7 Tikus Putih Jantan

Pada penelitian secara *in vitro* hewan percobaan yang sering digunakan adalah tikus. Tikus cocok digunakan untuk berbagai penelitian karena sifat-sifatnya telah diketahui secara sempurna, mudah dipelihara, dan merupakan hewan yang relatif sehat. Ciri-ciri morfologi tikus yang digunakan dalam penelitian antara lain memiliki berat 150-200 gram, hidung tumpul dan badan besar dengan panjang 18-25 cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga relatif kecil dan tidak lebih dari 20- 23 mm (Depkes, 2008). *Rattus novergicus* adalah jenis tikus yang umumnya digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian karena memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan manusia, yakni termasuk ke dalam kelas mamalia. Klasifikasi tikus dalam taksonomi adalah (Depkes, 2008). :

Dunia	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Kelas	: Mammalia
Subklas	: Theria
Ordo	: Rodentia
Sub ordo	: Myomorpha
Famili	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus novergicus</i>

2.8 Metode Spektrofotometer UV- Vis

Metode spektrofotometri dapat digunakan untuk penetapan kadar hemoglobin dalam suatu sampel dapat ditentukan kadarnya menggunakan spektrofotometri Uv-Vis. Spektrofotometri UV-Vis merupakan suatu metode analisis dalam mengukur konsentrasi suatu senyawa berdasarkan kemampuan senyawa tersebut dalam mengabsorpsi berkas sinar atau cahaya yang menghasilkan sinar monokromatis dalam jangkauan panjang gelombang 200 hingga 500nm. Selain itu dalam memilih metode untuk analisis suatu senyawa harus memperhatikan berbagai faktor seperti tujuan analisis dilakukan, jenis dan sifat sampel yang akan dianalisis, jumlah sampel serta ketepatan dan ketelitian yang dihasilkan dari metode tersebut. Perlu diketahui juga bahwa dalam analisis menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis memiliki beberapa keuntungan, seperti lebih cepat serta menggunakan pelarut yang sedikit selain itu metode spektrofotometri UV-Vis dapat memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil serta angka yang terbaca langsung tercatat oleh detector. Spektrofotometri dapat digunakan baik secara analisis kualitatif maupun analisis kuantitatif dimana dihasilkan data berupa panjang gelombang maksimum untuk analisis kualitatif sedangkan analisis kuantitatif dapat menggunakan nilai absorbansi yang nantinya melalui perhitungan hukum *Lambert-Beer* akan mendapatkan konsentrasi (ppm) suatu senyawa.

Keunggulan dari spektrofotometri UV-Vis adalah sederhana, cepat, spesifik, dan dapat diterapkan pada senyawa dalam jumlah kecil. Prinsip kerja dari instrumen ini yaitu cahaya yang datang akan diserap. Intensitas cahaya

yang diserap sebanding dengan konsentrasi zat penyerap cahaya. Hukum yang melatar belakangi metode ini adalah hukum *Lambert-Beer* (Zirlyvera et al., 2024).

Hukum *Lambert-Beer* adalah hukum yang menyatakan bahwa absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi larutan analit dan berbanding terbalik dengan transmitan. Batasan dari hukum ini yaitu : Sinar yang dilewatkan dianggap monokromatis, penyerapan dilakukan pada volume dengan ketebalan sama, konsentrasi larutan dapat mempengaruhi indeks bias, tidak boleh ada fluoresensi atau fosforisensi (Iskandar, 2017).

Analisis kuantitatif secara spektrofotometri Uv-Vis berlaku *hukum Lambert-Beer* yang dapat dinyatakan melalui persamaan (1) dan (2). Kisaran absorbansi *Lambert-Beer* yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 - 0,8 atau 15% - 70% jika sebagai transmitans.

Bila konsentrasi dinyatakan dalam gram/liter, maka :

$$A = a.b.c \dots\dots\dots (1)$$

Dimana :

a = absortivitas ($\text{g}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

b = Panjang sel/lebar kuvet (cm)

c = konsentrasi analit (g/L^{-1})

Bila konsentrasi dinyatakan dalam mol/liter, maka :

$$A = a.b.c \dots\dots\dots (2)$$

Dimana :

a = absortivitas ($\text{g}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)

b = Panjang sel/lebar kuvet (cm)

c = konsentrasi analit (mol/L^{-1}) (Putri, 2017).

Analisis dengan spektrofotometri Uv-Vis digunakan untuk menentukan jenis kromofor dan auksokrom pada sampel senyawa organik, memberikan informasi mengenai struktur senyawa berdasarkan pada panjang gelombang maksimum dan menganalisis senyawa organik secara kuantitatif. Pengujian kuantitatif dengan metode ini dilakukan dengan mengukur absorbansi dari analit yang diuji pada panjang gelombang maksimum yang telah teridentifikasi. Konsentrasi dihitung berdasarkan persamaan regresi yang diperoleh saat penentuan kurva standar (Abriyani et al., 2023).

2.9 Landasan Teori

Menurut penelitian Rahman et al (2018), ekstrak etanol daun kamboja (*Plumeria rubra* L.) memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi. Ekstrak etanol daun kamboja dosis 166,6 mg/kgBB, 222,2 mg/kgBB dan 277,7 mg/kgBB dapat menurunkan volume edema pada telapak kaki tikus. Ekstrak etanol daun kamboja yang memiliki efek paling baik sebagai antiinflamasi adalah dosis 277,7 mg/kgBB.

Menurut penelitian Shofi et al (2020), ekstrak etanol tanaman kamboja jepang dan kamboja putih memiliki potensi sebagai antioksidan alami, mengandung senyawa golongan saponin, tanin, dan alkaloid dengan persentase penghambatan antioksidan tertinggi oleh ekstrak etanol 70% pada bunga yaitu 80,49% dan terendah ekstrak etanol 96% pada bunga kamboja jepang yaitu 57,72%. IC_{50} tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak etanol 96% bunga kamboja putih yaitu 533,13 ppm dan terendah ekstrak etanol 70% pada bunga kamboja putih yaitu 98,41 ppm. Perlu dilakukan penelitian lanjutan pada tahap purifikasi ekstrak, atau isolasi senyawa fenolik untuk melihat efektivitas

antioksidan dan perlu penelitian lanjut dengan menggunakan pelarut selain etanol.

Menurut penelitian Suhartanto et al (2022), dapat disimpulkan bahwa krim bunga kamboja dapat membantu penyembuhan ulkus kaki diabetikus pada tikus wistar, ditemukannya peningkatan kecepatan penutupan luka sekitar dua kali lebih cepat dibandingkan hewan coba tanpa perlakuan. Pada pengukuran luas luka didapatkan kelompok 2 (krim 25%) mengalami penutupan 75% sedangkan kontrol negatif hanya mengalami penutupan 37%. Namun, pada kelompok 3 dan 4 yang diberikan dosis krim lebih tinggi, hasilnya tidak menunjukkan percepatan yang lebih baik dari krim 25%. Hal ini pun sejalan dengan luas kolagen yang terbentuk pada kulit tikus. Kelompok 2 menunjukkan hasil intensitas warna merah pada presentasi sel dermis yang lebih baik dari kelompok perlakuan lain. Hal ini menunjukkan bahwa dosis 25% adalah dosis maksimal efektif untuk penyembuhan luka ulkus kaki diabetikus pada tikus wistar.

Menurut penelitian Fikayuniar et al (2023), dapat disimpulkan bahwa tanaman kamboja selain flavonoid juga mengandung berbagai metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, steroid dan saponin. Pada metode tabung reaksi, skrining fitokimia bunga kamboja untuk keberadaan senyawa flavonoid hanya ditunjukkan dengan pembentukan warna merah atau jingga.

2.10 Hipotesis Penelitian

H0 : Ekstrak metanol daun kamboja Jepang (*Adenium obesum*) tidak memiliki efek antiinflamasi terhadap membran sel darah merah pada tikus jantan.

H1 : Daun kamboja Jepang (*Adenium obesum*) memiliki efek antiinflamasi terhadap sel darah merah pada tikus jantan.