

UJI IRITASI PRIMER KRIM ANTI INFLAMASI EKSTRAK ETANOL DAUN RAMBUSA (*Passiflora foetida* L) PADA KELINCI ALBINO (*Oryctolagus cuniculus*)

Evi Mulyani*, Halida Suryadini, Rianiko

Program Sruji D3 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Palangkaraya, Jl. RTA Milono, Langkai, Kec. Pahandut, Kota Palangka Raya, Kalimantan Tengah 73111, Indonesia

*evi.muly4ni@gmail.com

ABSTRAK

Uji iritasi primer merupakan upaya standarisasi sediaan topikal terutama keamanan penggunaannya. Ekstrak Etanol Daun Rambusa (EEDR) diformulasikan sebagai krim antiradang yang memenuhi standar fisik, sehingga harus diuji keamanannya sebelum diajukan ke uji klinis. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah krim antiinflamasi EEDR dapat mengiritasi kulit hewan uji. Penelitian merupakan penelitian eksperimental dengan cara memaparkan krim EEDR pada kulit kelinci albino (*Oryctolagus cuniculus*) yang telah diinsisi dan tidak diinsisi dan diamati selama 3 x 24 jam untuk menghitung skor iritasi. Penelitian menunjukkan bahwa krim antiradang EEDR memiliki indeks iritasi primer yang masuk dalam kategori kurang mengiritasi atau tidak mengiritasi (<2).

Kata kunci: krim anti inflamasi EEDR; rambusa (*Passiflora foetida* L.); uji iritasi

PRIMARY IRRITATION TEST OF ANTI-INFLAMMATORY CREAM OF RAMBUSA LEAF ETHANOL EXTRACT (*Passiflora foetida* L) IN ALBINO RABBITS (*Oryctolagus cuniculus*)

ABSTRACT

*An effort is made to standardize topical medications, particularly their safety of use, through the use of a main irritation test. Before being used in clinical trials, Rambusa Leaf Ethanol Extract (EEDR), which has been made into an anti-inflammatory cream that complies with physical standards, needs to be examined for safety. The goal of this investigation was to determine whether test animals' skin may become irritated by the EEDR anti-inflammatory cream. Methods: This study's methodology was exploratory. Albino rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) were applied with EEDR cream to incised and non-incised skin, and observations were made for three consecutive days to determine the irritation score. The study's findings demonstrated that the EEDR anti-inflammatory cream had a primary irritation index that was integrated into the less stimulating category or no irritation (< 2).*

*Keywords: EEDR anti-inflammatory cream; irritation test; rambusa (*Passiflora foetida* L.)*

PENDAHULUAN

Iritasi merupakan salah satu reaksi kulit yang merugikan yang dapat disebabkan oleh berbagai faktor, antara lain durasi aplikasi, area aplikasi, derajat penetrasi dan toksisitas bahan yang digunakan (More *et al.*, 2013). Iritasi kulit ditandai dengan kemerahan dan pembengkakan, dimana terjadi kemerahan akibat pelebaran pembuluh darah pada daerah yang teriritasi, sedangkan edema meningkatkan plasma pada daerah yang terkena (Irsan *et al.*, 2013). Iritasi kulit merupakan reaksi yang tergolong reaksi peradangan. Peradangan atau inflamasi merupakan kondisi yang banyak diderita oleh orang-orang dan biasanya ditandai dengan bengkak, nyeri, kemerahan dan terasa hangat. Peradangan terjadi sebagai respon perlindungan normal terhadap kerusakan jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, bahan kimia berbahaya atau agen mikrobiologis. Peradangan adalah upaya tubuh untuk menonaktifkan atau menghancurkan organisme penyerang, menghilangkan iritan, dan menyiapkan langkah-langkah perbaikan (Harvey dan Pamela, 2013).

Peradangan sering terjadi di luar tubuh akibat benda tumpul yang terlihat, luka, dll di permukaan kulit. Peradangan kulit disebabkan oleh peningkatan sitokin pro-inflamasi seperti

TNF- α , IL-1 dan IL-6. Mediator inflamasi seperti histamin, bradikinin, serotonin, dan prostaglandin dilepaskan selama peradangan (Necas *et al.*, 2013). Berdasarkan Mulyani dkk. (2022) mencatat bahwa pengobatan radang pada masyarakat luas tidak terbatas pada obat-obatan yang dijual bebas, namun penggunaan tanaman antiradang salah satunya Rambusa masih populer. tumbuhan (*Passiflora foetida L.*). Rambusa (*Passiflora foetida L.*) merupakan tumbuhan liar yang terdapat di daerah perairan seperti rawa dan sungai (Lim, 2012). Bagian tanaman rambusa yang memiliki khasiat obat tidak terlepas dari senyawa kimia yang dikandungnya. Senyawa kimia yang paling penting antara lain alkaloid, fenol, glikosida, flavonoid dan senyawa sianogenik (Lim, 2012). Daun merupakan bagian dari Rambusa yang digunakan untuk pengobatan alternatif beberapa penyakit seperti radang, rematik, diare dan sakit perut (Assadujjaman *et al.*, 2014).

Secara ilmiah daun rambusa sudah dibuktikan manfaatnya dalam penanganan masalah dalam Kesehatan. Quattrocchi. (2012) menyebutkan daun rambusa berkhasiat meredakan panas, insomnia, pilek, sakit kepala dan asma. Rambusa memiliki aktivitas anti inflamasi, antitumor, antikanker, antihepatotoksisitas dan anti mikroba (Noviyanti *et al.*, 2014). Berdasarkan penelitian Mulyani *et al.* (2022) dikatakan bahwa daun rambusa dapat dibuat dalam sediaan krim yang sudah memenuhi persyaratan sifat fisik. Selain sifat fisik suatu sediaan farmasi juga harus memenuhi syarat keamanan dalam penggunaan. Sehingga perlu dilakukan uji lanjutan iritasi. Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah krim antiinflamasi EEDR dapat mengiritasi kulit pada hewan percobaan.

METODE

Formulasi Krim Ekstrak Etanol Daun Rambusa

Dalam penelitian ini formulasi sediaan krim ekstrak daun rambusa dibuat dengan bobot 100 g.

Tabel 1.
Formula Krim Ekstrak Etanol Daun Rambusa (Mulyani *et al.*, 2022).

Bahan	Formula %		
	F1	F2	F3
Ekstrak Daun Rambusa	0,32	0,62	0,92
Asam Stearat	4,37	4,37	4,37
TEA	qs	qs	qs
Adeps Lanae	0,92	0,92	0,92
Gliserin	7,52	7,52	7,52
Nipagin	0,05	0,05	0,05
Nipazol	0,03	0,03	0,03
Aquades	16,92	16,49	16,19

Keterangan:

F1: Ekstrak etanol daun rambusa 1%

F2: Ekstrak etanol daun rambusa 2%

F3: Ekstrak etanol daun rambusa 3%

Pemeliharaan dan Perawatan Hewan Uji

Hewan coba yang digunakan dalam percobaan ini adalah kelinci albino sehat (*Oryctolagus cuniculus*) yang memiliki kepekaan sangat tinggi terhadap stres sehingga harus selalu ditangani dengan tenang dan percaya diri untuk menurunkan risiko stress (Kementerian Pertanian, 2016). Kandang kelinci dibersihkan setiap 3 hari sekali agar kelinci tetap sehat dan terhindar dari scabies atau penyakit lainnya. Setiap hari dilakukan pengamatan terhadap

tanda-tanda penyakit, cedera atau kematian. Suhu udara di dalam kandang selama penelitian berkisar antara 25-26 °C dan kelembaban udara selama di dalam kandang ideal yaitu 80-82% (Kementerian Pertanian, 2016).

Uji Iritasi Primer Krim Anti Inflamasi Ekstrak Etanol Daun Rambusa

Teknik yang digunakan yaitu uji tempel (*Patch test*) pada kulit kelinci yang terbagi menjadi 2 bagian yang di insisi dan non-insisi. Hewan uji yang digunakan adalah kelinci sebanyak 5 ekor yang mewakili setiap kelompok perlakuan. Area punggung yang sudah ditandai kemudian dicukur hingga bersih dan biarkan selama 24 jam. Bersihkan punggung kelinci yang sudah dicukur menggunakan alkohol *Swab* sebelum pengolesan krim. Setelah dioleskan, ditutup menggunakan kasa dan perban steril. Pengamatan eritema dan edema yang terjadi dilakukan pada jam ke-24, 48 dan 72 setelah pemejanaan. Pada waktu 24, 48 dan 72 jam setelah pemberian bahan uji, dilakukan pemeriksaan reaksi kulit terhadap bahan uji dan dinilai dengan cara memberi skor 0 sampai 4 untuk udema dan eritema (Tutik, 2021).

Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh diberikan skor dan dihitung menggunakan metode berikut:

Tabel 2.
Evaluasi Reaksi Kulit (Zulfa *et al.*, 2018)

Jenis Iritasi		Skor
Eritema	Tanpa eritema	0
	Sangat sedikit eritema (hampir tidak terlihat)	1
	Eritema tepi berbatas jelas	2
	Eritema sedang sampai berat	3
	Eritema berat (merah bit) sampai sedikit membentuk kerak	4
Edema	Tanpa edema	0
	Sangat sedikit edema (hampir tidak terlihat)	1
	Edema tepi berbatas jelas	2
	Edema sedang (tepi naik +/- 1 mm)	3
	Edema berat (tepi naik lebih dari 1 mm dan meluas keluar daerah pejanan)	4

Skor eritema dan edema keseluruhan pada jam ke 24, 48 dan 72 di rata-rata. Rata-rata ini disebut indeks iritasi primer. Kriteria iritasi dicocokkan dengan tabel di bawah ini:

Tabel 3.
Indeks Iritasi Primer (Zulfa *et al.*, 2018)

Jenis Iritasi	Kriteria Iritasi
0	Tidak mengiritasi
< 2	Kurang merangsang
2-5	Iritan moderat
>5	Iritan berat

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan edema dan eritema pada kulit kelinci dilakukan pada jam ke 24, 48, dan 72 di area punggung kelinci yang diberikan krim EEDR baik yang tidak di insisi maupun yang di insisi. Nilai indeks iritasi yang dihasilkan berkisar antara 0,66 sampai dengan 1 (<2).

Tabel 4.
Data Pengamatan Indeks Iritasi Primer Non-Insisi dan Insisi

Kelinci/Kelompok	Iritasi primer		Indeks Iritasi Primer	Interpretasi
	Non-insisi	Insisi		
Kontrol Negatif	0	6	1	Kurang merangsang
Formula 0	0	4	0,66	Kurang merangsang
Formula 1	0	6	1	Kurang merangsang
Formula 2	0	4	0,66	Kurang merangsang
Formula 3	0	4	0,66	Kurang merangsang

Pada pengujian iritasi primer krim anti inflamasi EEDR dilakukan pada hewan uji kelinci albino (*Oryctolagus cuniculus*), pemilihan pada kelinci albino karena kelinci ini memiliki produktivitas tinggi, pemeliharaan yang mudah, memiliki siklus hidup yang pendek, daya tahan terhadap penyakit lebih kuat, tidak memerlukan tempat yang luas serta memiliki pigmen kulit yang hampir menyerupai struktur kulit manusia. Kulit normal kelinci albino (*Oryctolagus cuniculus*) dilindungi oleh bulu yang tebal serta normal. Kelinci albino (*Oryctolagus cuniculus*) berwarna putih bersih dan kulitnya agak kaku. Kelinci albino memiliki bulu pendek yang halus dan tebal dan berwarna putih. Kulit segar dan sehat pada hewan tersusun dari 64% air, 33% protein, 2% lemak, 0,5% garam mineral dan 0,5% penyusun lainnya. Komponen penyusun kulit paling penting protein yang terdiri dari kolagen (29%), keratin (2%), dan elastin (0,5%) (Indri *et al.*, 2019).

Pengamatan hasil pengujian dilakukan secara kuantitatif yaitu menentukan skor eritema dan edema sesuai dengan Tabel 3. Dari tabel tersebut dapat diketahui bahwa skor eritema dan edema tertinggi adalah 1. Skor iritasi kulit pada formula 0, 2 dan formula 3 cenderung lebih kecil dari kulit normal yang tidak diberi perlakuan sediaan apapun. Dari Tabel 4, terlihat skor eritema dan edema dari setiap waktu pengamatan. Skor tersebut kemudian digabungkan untuk mendapatkan indeks iritasi primer. Hasil pengamatan pada Tabel 4 menunjukkan bahwa eritema dan pembengkakan multipel terjadi pada kelompok insisi, kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, sedangkan eritema dan pembengkakan tidak terjadi pada kelompok non insisi, namun menggunakan rumus indeks yang dihitung primer. iritasi, semua kontrol dan Perawatan dapat diklasifikasikan sebagai iritasi yang tidak terlihat (<2) atau kurang merangsang. Berdasarkan uji iritasi pada kulit yang di insisi bahwa pada hari ketiga atau pada jam ke 72 sudah tidak terjadi eritema dan edema. Saat luka sembuh, proses inflamasi dapat dengan cepat dilewati dan berlanjut ke fase proliferasi, di mana luka dibangun kembali dengan jaringan baru yang terbuat dari kolagen dan matriks ekstraseluler (Muchlas, 2012) dan Fase remodeling merupakan fase akhir penyembuhan luka yang sering disebut sebagai fase maturasi. Pada tahap ini, sel-sel epitel baru telah menutupi seluruh tepi luka. Pada tahap ini, pertumbuhan normal epidermis pada kulit merupakan salah satu tanda bahwa proses penyembuhan luka berjalan dengan baik (Putri *et al.*, 2022).

Eritema dimanifestasikan dengan kemerahan pada kulit dan munculnya kemungkinan bisul. Edema dapat dilihat pada tingkat permukaan kulit yang terangkat/bengkak dibandingkan kulit normal. Iritasi merusak sel-sel kulit melalui aksi kimiawi. Bahan kimia ini merusak membran lipid keratinosit, kemudian sebagian menembus membran sel dan merusak lisosom, mitokondria, dan komponen nuklir. Kerusakan membran mengaktifkan beberapa mediator, seperti fosfolipase, asam arakidonat (AA), yang diubah menjadi prostaglandin (PG) dan leukotrien (LT), diasilgliserida (DAG), platelet activating factor (PAF), dan inositida, yang menginduksi vasodilatasi dan meningkatkan permeabilitas vaskular. Vasodilatasi dan

peningkatan permeabilitas pembuluh darah, yang kemudian menyebabkan kemerahan dan pembengkakan yang dikenal sebagai iritasi (Fatmawaty *et al.*, 2016).

Iritasi yang terjadi dalam uji ini dapat terjadi karena ada beberapa komposisi krim. Komponen yang berpotensi mengiritasi kulit diantaranya adalah TEA (Sulastri *et al.*, 2017). Suhu tinggi dan kelembaban udara yang rendah juga dapat menimbulkan iritasi baik eritema maupun edema. Kemerahan dan pembengkakan pada kulit dapat terjadi setelah perawatan dengan bahan kimia atau zat lain. Ini adalah iritasi kulit setelah kontak pertama dengan bahan kimia. Reaksi terjadi dalam 24 jam, kulit baru menyebabkan efek iritasi. Iritasi kulit yang ditandai dengan pembengkakan (penumpukan cairan di bawah kulit) dan eritema (kulit memerah akibat peningkatan aliran darah lokal) (Savitri, 2018). Sehingga dapat dibandingkan antara kulit normal dan diberi perlakuan insisi.

SIMPULAN

Sediaan krim anti inflamasi EEDR memiliki indeks iritasi primer yang termasuk dalam kategori kurang merangsang atau iritasi tidak tampak (< 2).

DAFTAR PUSTAKA

- Assadujjaman., Mishuk., Hossain, & Karmakar, U. (2014). Medicinal potential of *Passiflora foetida* L. Plant Extracts: Biological and Pharmacological Activities. *Journal of Integrative Medicine*. 12(2): 121- 126
- Fatmawaty, A., Manggau, M. A., Tayeb, R., & Adawiah, R. (2016). Uji Iritasi Krim Hasil Fermentasi Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan Variasi Konsentrasi Emulgator Novemer Pada Kulit Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*. 1(2): 62-65
- Harvey, R.A., & Pamela, C.C.(2013). *Farmakologi Ulasan Bergambar*, Penerbit buku kedokteran: EGC: Jakarta
- Indri, J., Sri, M., Deni, N., & Endang, P.(2019). *Kulit Ilmu, Teknologi dan Aplikasi* : Padang
- Irsan, M.A, Manggav, E., Pakki., & Usmar. (2013). Uji Iritasi Krim Antioksidan Ekstrak Biji Lengkeng (*Euphoria longana Stand*) pada Kulit Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 17(2)
- Kementerian Pertanian Republik Indonesia. (2016). *Penggunaan Dan Penanganan Hewan Coba Rodensia Dalam Penelitian Sesuai Dengan Kesejahteraan Hewan*. Jakarta
- Lim, T.K.(2012). *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants Volume 4 Fruits*. Springer: New York
- More, B. H., Sakhawarde, S. N., Tembhurne, S. V., & Sakarkar, D.M.(2013). Evaluation for Skin Irritancy Testing of Developed Formulations Containing Extract of *Butea Monosperma* for Its Topical Application, *International Journal of Toxicology and Applied Pharmacology*. 3(1): 10-13
- Muchlas, F.(2012). Uji Efektivitas Puyer Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) sebagai Penyembuh Luka Sayat pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* strain Wistar). *Jurnal Ilmiah Pendidikan Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam UMM*: 2-6

- Mulyani, E, Halida, S., & Rizka, R. P. (2022). Formulasi Sediaan Krim Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Rambusa (*Passiflora foetida L.*). *Jurnal Surya Medika*. Vol. 7 No.02
- Noviyanti, Y., Pasaribu, S. P., & Daniel, T. (2014). Uji Fitokimia, Toksisitas Dan Aktivitas Antibakteri Terhadap Ekstrak Etanol Daun Rambusa (*Passiflora Foetida L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman*. 12(1)
- Putri, S. A. P., Ali., & Nasruddin. (2022). Gambaran Histologi Fase Remodelling Jaringan Luka Kronik Kulit Mencit Setelah Pemberian Perlakuan Plasma Jet. *Jurnal Laboran Medika*. Volume 6 Nomor 1
- Sulastri, L., Indriaty, S., & Pandanwangi, S. (2017). Formulasi Dan Uji Iritasi Dari Krim Yang Mengandung Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica (L) Urban*). *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 1(2): 67-75
- Tutik, Niken, F., Hanna, J., & Intan, A. (2021). Formulasi Sediaan Gel Moisturizer Anti-Aging Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa L.*) Sebagai Antioksidan. *Jurnal Farmasi Malahayati*. Vol 4 No 1
- Zulfa, E., Lailatunnida, L., & Murukmihadi, M. (2018). Formulasi Sediaan Krim Daun Binahong (*Anredera cordifolia (Ten.) Steenis*): Kajian Karakteristik Fisika Kimia dan Uji Iritasi Kulit. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*. 3(1).