

Anti-inflammatory Activity of Temulawak Nanocurcuminoid Coated with Palmitic Acid in The *Sprague Dawley* Rat

(Aktivitas Antiinflamasi Nanokurkuminoid Temulawak Tersalut Asam Palmitat Pada Tikus *Sprague Dawley*)

Rini Novita^{1*}, Laksmi Ambarsari¹, Syamsul Falah¹, Popi Asri Kurniatin¹, Waras Nurcholis¹, Latifah K. Darusman²

¹Department of Biochemistry, Bogor Agricultural University, Bogor, 16680, Indonesia

²Department of Chemistry, Bogor Agricultural University, Bogor, 16680, Indonesia

Received : 07 May 2015; Accepted: 31 August 2015

*Corresponding author: Rini Novita, S.Pd; Departemen Biokimia, Jl. Agatis Gd. Fapet Lt. 5, Wing 5, Bogor 16680; E-mail: rini_nov88@yahoo.co.id

ABSTRACT

Temulawak or Curcuma xanthorrhiza Roxb, is usually used as traditional medicine (herbal medicine) that has antioxidant, anticancer, antihyperglycemic, anti-inflammatory, hepatoprotective and gastroprotective properties. The main components contained in temulawak responsible for its efficacy as a medicine are xanthorrhizol and curcuminoid. Curcuminoid has drawbacks, which are difficult to absorb and very quickly metabolized by the body, so that limit its bioavailability. The use of solid lipid nanoparticle carrier system (SLN) in form of palmitic acid, is known to improve the bioavailability of curcuminoid. This study aims to find the effective dose of nanocurcuminoid coated with palmitic acid that can be used as an anti-inflammatory agent. The methods used in this study, include the production of nanocurcuminoid with homogenization and ultrasonication methods, determination of particle size, polydispersity index, entrapment efficiency and anti-inflammatory activity test through rat feet edema. Nanocurcuminoid obtained in this study was 561.53 nm in size, with polydispersity index 0.309 and concentrations of curcuminoid absorbed and entrapment efficiency were 0.61±0.031 mg/mL, 58.93±3.021%, respectively. Anti-inflammatory activity of nanocurcuminoid through treated Sprague Dawley rats, showed that there were no significant difference compared with the positive control, curcuminoid extracts and empty nanoparticle. These results indicate that nanocurcuminoid with 175, 200 and 250 mg/kg.bw in doses, has greater anti-inflammatory activity (31.70%) compared to the other treatments.

Keywords: anti-inflammatory, nanocurcuminoid, temulawak

ABSTRAK

Temulawak atau *Curcuma xanthorrhiza* Roxb, biasanya digunakan sebagai bahan obat tradisional (jamu) yang memiliki khasiat antioksidan, hepatoprotektif, antikanker, antihiperlipidemik, antiinflamasi dan gastroprotektif. Komponen utama yang terdapat dalam temulawak yang berkhasiat sebagai obat adalah xanthorrhizol dan kurkuminoid. Kurkuminoid memiliki kekurangan, yaitu sulit diserap dan sangat cepat di metabolisme oleh tubuh sehingga membatasi bioavailabilitasnya. Penggunaan sistem pembawa nanopartikel lemak padat (NLP) berupa asam palmitat diketahui dapat memperbaiki bioavailabilitas dari kurkuminoid. Penelitian ini bertujuan untuk mencari dosis efektif dari nanokurkuminoid tersalut asam palmitat yang dapat digunakan sebagai antiinflamasi. Metode yang digunakan meliputi pembuatan nanokurkuminoid dengan metode homogenisasi dan ultrasonikasi, uji ukuran partikel, indeks polidispersitas, efisiensi penjerapan, serta uji aktivitas antiinflamasi melalui edema telapak kaki tikus. Nanokurkuminoid yang diperoleh dalam penelitian ini berukuran 561.53 nm dan indeks polidispersitas 0.309 dengan konsentrasi kurkuminoid yang terjerap dan efisiensi penjerapan yang dihasilkan yaitu sebesar 0.61 ± 0.031 mg/ml dan $58.93 \pm 3.021\%$. Uji aktivitas antiinflamasi dari nanokurkuminoid pada tikus Sprague Dawley menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol positif, ekstrak kurkuminoid dan nanokosong. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nanokurkuminoid dosis 175, 200 dan 250 mg/Kg BB memiliki daya antiinflamasi yang lebih besar (31.70%) dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Kata kunci: antiinflamasi, nanokurkuminoid, temulawak

1. PENDAHULUAN

Inflamasi merupakan respon kekebalan tubuh yang berguna untuk mengembalikan struktur dan fungsi jaringan setelah terjadinya infeksi atau cedera. Proses ini ditandai dengan kemerahan, panas, pembengkakan, dan rasa nyeri (Nathan 2002). Inflamasi akut terjadi dalam dua fasa. Fasa pertama dimulai dengan pelepasan histamin, serotonin dan kinin setelah injeksi agen radang pada beberapa jam pertama, sedangkan fase kedua terkait dengan pelepasan prostaglandin. Prostaglandin bertanggung jawab pada proses inflamasi akut (Amdekar *et al.* 2012). Obat anti inflamasi non steroid (OAINS) bekerja dengan cara menghambat enzim siklooksigenase (COX) yang berperan pada biosintesis prostaglandin yang merupakan mediator atau substansi radang yang memperkuat

efek nyeri dan demam pada saat terjadinya inflamasi (Ricciotti & FitzGerald 2011). Terdapat dua isoform enzim siklooksigenase di dalam tubuh manusia, yaitu enzim COX-1 dan COX-2, dimana kedua enzim ini terlibat pada respon inflamasi. Penghambatan enzim COX-1 dalam keping darah dan jaringan epitel lambung oleh OAINS dapat menyebabkan kerusakan lambung, gangguan saluran cerna, kerusakan pada ginjal, dan gangguan kardiovaskuler (Haghighi *et al.* 2005). Hal ini menunjukkan bahwa perlu adanya suatu senyawa pengganti OAINS yang dapat berperan sebagai agen antiinflamasi tanpa memberikan efek samping yang merugikan pada penggunaannya.

Curcuma xanthorrhiza Roxb atau biasa di Indonesia dikenal dengan nama temulawak, biasanya digunakan sebagai tanaman obat tra-

disional (jamu). Kandungan kurkuminoid pada temulawak memiliki banyak manfaat yaitu dapat digunakan sebagai antioksidan dan hepatoprotektif (Devaraj *et al.* 2014), antikanker (Aggarwal *et al.* 2003), gastroprotektif (Yadav *et al.* 2013), antihiperlikemik dan antiinflamasi (Kim *et al.* 2014). Kurkumin yang merupakan komponen utama dalam kurkuminoid berperan sebagai agen antiinflamasi dengan cara menghambat aktivasi NF-kB yang merupakan regulator penting dari ekspresi COX-2 (Aggarwal *et al.* 2004).

Lebih dari tiga dekade dilakukan penelitian terhadap kurkuminoid terkait dengan penyerapan, distribusi, metabolisme dan ekskresi kurkuminoid, mengungkapkan bahwa kurkuminoid sulit diserap dan sangat cepat dimetabolisme oleh tubuh sehingga membatasi bioavailabilitasnya (Anand *et al.* 2007). Penelitian menunjukkan bahwa kurkuminoid yang dikemas kedalam sistem koloid pembawa yang didasarkan pada nanosains dan nanoteknologi dapat meningkatkan potensi terapinya. Salah satu sistem penghantaran obat yang digunakan dalam penelitian ini adalah nanopartikel lemak padat (NLP) yang merupakan salah satu sistem pembawa alternatif berukuran submikron (50-1000 nm) (Lakkireddy *et al.* 2006). Keuntungan penggunaan partikel lipid sebagai sistem pembawa obat yaitu pada penggunaan matriks yang terdiri dari komponen fisiologis yang aman untuk diberikan secara oral maupun topikal dengan sitoksisitas yang rendah (Jawahar *et al.* 2012), dapat meningkatkan kontrol pelepasan kurkuminoid sehingga bioavailabilitasnya meningkat (Tiyaboonchai *et al.* 2007), mampu meningkatkan distribusi kurkumin, sehingga dapat mempertahankan kurkumin di dalam darah, dan meningkatkan konsentrasi kurkumin di dalam

organ target (Wang *et al.* 2012).

Menurut Maulia (2014), nanokurkuminoid tersalut asam palmitat yang dibuat dengan metode metode homogenisasi dan ultrasonikasi memiliki daya antiinflamasi yang setara dengan natrium diklofenak, yaitu pada dosis 100 mg/Kg BB. Penelitian ini bertujuan untuk mencari dosis efektif dari nanokurkuminoid tersalut asam palmitat yang memiliki khasiat sebagai antiinflamasi. Parameter uji antiinflamasi berupa pengukuran volume edema kaki tikus *Sprague Dawley*. Penggunaan sistem pembawa berupa nanopartikel lemak padat ini diharapkan dapat meningkatkan aktivitas antiinflamasi kurkuminoid sehingga dapat menggantikan produk komersial yang memiliki efek kurang menguntungkan.

2. METODOLOGI

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* yang diperoleh dari Pusat Studi Biofarmaka (PSB) berumur 3 bulan, sehat, memiliki aktivitas normal, dan mempunyai bobot badan antara 200-300 gram. Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini antara lain pasta kurkuminoid temulawak yang berasal dari daerah Ciemas - Sukabumi, asam palmitat (Merck), poloksamer 188 (BASF), air *reverse osmosis* (RO) dengan pH 7, karagenan 1%, larutan garam fisiologis (NaCl 0.9%), natrium diklofenak. Alat - alat yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain *homogenizer* (Ultra Turrax T18), *ultrasonic processor* (130 Watt 20 kHz, Cole-Parmer), *particle size analyzer* (Delsa NanoC, Beckman Coulter), mikrosentrifus (MIKRO 200R, Hettich Zentrifugen), spektrofotometer UV-Vis (Ocean Optic USB4000) dan pletismometer.

Pembuatan Nanokurkuminoid Temulawak Tersalut Asam Palmitat (Mujib 2011 dan Ekaputra 2013)

Sampel pasta kurkuminoid diperoleh dari hasil ekstraksi yang dilakukan secara maserasi menggunakan etanol oleh Permasku (2014). Temulawak yang digunakan berasal dari daerah Ciemas, memiliki kadar air 8.56 %, rendemen ekstrak 20.6192 %, serta kadar kurkuminoid total 67.0429 mg/g (bisdemetoksikurkumin 1.8654 mg/g, demetoksikurkumin 20.9166 mg/g, dan kurkumin 44.2609 mg/g) (Permasku 2014). Fase lemak yang terdiri atas 1.0 g asam palmitat dan 0.1 g pasta kurkuminoid dipanaskan pada suhu 75°C lalu diaduk dengan ultrasonikator di dalam batch pemanas. Fase air yang terdiri atas 0.5 g poloksamer 188 dan 100 ml air *reverse osmosis* (RO) dengan pH 7 dipanaskan pada suhu 75°C lalu diaduk menggunakan pengaduk magnet (*magnetic stirrer*). Fase lemak kemudian didispersikan ke dalam fase air. Campuran fase lemak dan fase air lalu diaduk di atas *hotplate* dengan *magnetic stirrer* pada suhu 75°C selama 5 menit. Emulsi nanokurkuminoid yang dihasilkan kemudian dihomogenisasi menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan 13500 rpm selama 5 menit. Emulsi nanokurkuminoid yang diperoleh lalu didinginkan dengan cara ditempatkan pada wadah berisi air dan es batu. Sebanyak 20 ml emulsi nanokurkuminoid diambil dari stok awal, diletakkan ke dalam botol kaca kecil untuk diultrasonikasi dengan amplitudo 20% selama 1 jam, kemudian didinginkan dalam wadah yang berisi air dan es batu. Hal ini dilakukan hingga semua emulsi nanokurkuminoid tersonikasi. Nanopartikel kosong (nanokosong) dibuat dengan cara yang sama dengan nanokurkuminoid, tetapi tidak menggunakan sampel pasta kurkuminoid. Selanjutnya ukuran

partikel emulsi nanokurkuminoid dan nanokosong diukur menggunakan alat PSA (*particle size analyzer*).

Efisiensi Penjerapan (Yadav *et al.* 2008)

Nanokurkuminoid yang dihasilkan disentrifugasi dengan kecepatan 14000 rpm pada suhu 4°C selama 40 menit dan supernatannya didekantasi. Residunya dicuci dengan pelarut kurkuminoid metanol dan air (8:1), untuk mengekstraksi kurkuminoid yang terjerap dan disentrifugasi kembali. Absorbansi supernatan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 425 nm. Efisiensi penjerapan dihitung dengan persamaan:

$$\text{Efisiensi penjerapan} = \frac{\text{Konsentrasi kurkuminoid terjerap}}{\text{Konsentrasi kurkuminoid yang ditambahkan}} \times 100\%$$

Konsentrasi kurkuminoid terjerap diperoleh dengan memasukkan nilai absorbansi pada persamaan linear kurva standar ekstrak kurkuminoid.

Perlakuan Pada Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam percobaan adalah tikus jantan galur *Sprague Dawley* yang sebelumnya telah diadaptasikan selama satu minggu dalam kandang percobaan Pusat Studi Biofarmaka (PSB). Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) dengan tikus yang digunakan dalam percobaan sebanyak 22 ekor yang dibagi menjadi 11 perlakuan secara acak. Masing-masing perlakuan terdiri atas dua ekor tikus. Tikus dipuasakan selama ± 14 jam sebelum perlakuan dilakukan, kemudian bobot badan tikus ditimbang untuk menentukan dosis nanokurkuminoid yang akan diberikan dan kaki tikus diberi tanda batas pada

mata kakinya untuk menyamakan persepsi pembacaan pada setiap jamnya. Volume awal (V_a) kaki tikus diukur dengan pletismometer, kemudian diinduksi larutan karagenan 1% sebanyak 0.1 ml pada telapak kaki tikus. Pengukuran volume edema kaki tikus (V_k) dilakukan setelah satu jam induksi kemudian diberi perlakuan secara oral. Untuk perlakuan 1,2,3,4,5,6,7 diberikan perlakuan dengan menggunakan nanokurkuminoid dosis 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250 mg/kg BB. Perlakuan 8 menggunakan nanokosong 250 mg/kg BB, perlakuan 9 menggunakan larutan saline NaCl 0.9% (kontrol negatif), perlakuan 10 menggunakan ekstrak kurkuminoid temulawak 100 mg/kg BB, dan perlakuan 11 menggunakan natrium diklofenak 75 mg/Kg BB (kontrol positif). Volume kaki tikus diukur setiap satu jam selama 6 jam perlakuan untuk mengetahui jumlah volume edema kaki tikus yang terjadi setiap jamnya (V_t).

Analisis Data

Volume edema (V_u) dihitung dari selisih volume kaki tikus sebelum (V_a) dan setelah diberi perlakuan pada waktu tertentu (V_t). Rumus volume edema:

$$V_u = V_t - V_a$$

$$\%Edema = \frac{V_u}{V_a} \times 100\%$$

Keterangan:

V_u : Volume edema telapak kaki tikus pada waktu tertentu

V_t : Volume telapak kaki tikus setelah diberi perlakuan pada waktu tertentu

V_a : Volume awal telapak kaki tikus sebelum diinjeksi dengan karagenan 1%

Volume edema selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai AUC, sedangkan % edema

digunakan untuk membandingkan kondisi kaki tikus pada setiap jamnya setelah diberi perlakuan.

Area Under the Curve (AUC) yaitu luas daerah di bawah kurva antara rata-rata volume edema setelah induksi karagenan 1% terhadap waktu pengamatan. AUC dihitung dari rata-rata volume edema jam ke-1 sampai jam ke-6 waktu percobaan. Perhitungan nilai AUC menggunakan metode trapezoid.

$$AUC_{t_{n-1}}^{t_n} = \frac{V_{t_{n-1}} + V_{t_n}}{2} (t_n - t_{n-1})$$

Keterangan :

$V_{t_{n-1}}$: rata-rata volume edema pada t_{n-1}

V_{t_n} : rata-rata volume edema pada t_n

Data AUC digunakan untuk menghitung daya antiinflamasi (%DAI) penghambatan volume edema dihitung dengan rumus:

$$\% DAI = \frac{AUC_k - AUC_p}{AUC_k} \times 100\%$$

Keterangan :

AUC_k : AUC rata-rata untuk kontrol negatif

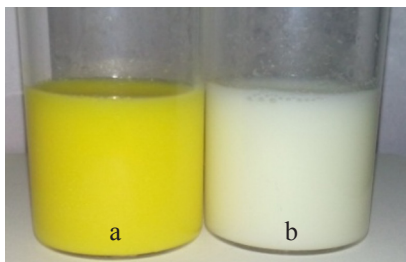
AUC_p : AUC rata-rata kelompok perlakuan

Data dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA) rancangan acak lengkap (RAL) dengan tingkat kepercayaan 95% dan taraf $\alpha=0.05$ untuk daya antiinflamasi. Jika terdapat perbedaan bermakna maka dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui perlakuan yang berpengaruh.

3. HASIL

Nanokurkuminoid Tersalut Asam Palmitat

Pada penelitian ini diperoleh dua jenis sediaan emulsi nanopartikel tersalut asam palmitat (Gambar 1), yaitu nanokurkuminoid ber-



Gambar 1 Sediaan Emulsi. a) Nanokurkuminoid, b) Nanokosong

warna kuning cerah dan nanokosong berwarna putih. Emulsi nanokurkuminoid yang dihasilkan cukup stabil dengan tidak adanya endapan pada dasar tabung. Kestabilan nanokurkuminoid juga dapat dibuktikan dengan melihat indeks polidispersitasnya melalui karakterisasi menggunakan alat *particle size analyzer* (PSA).

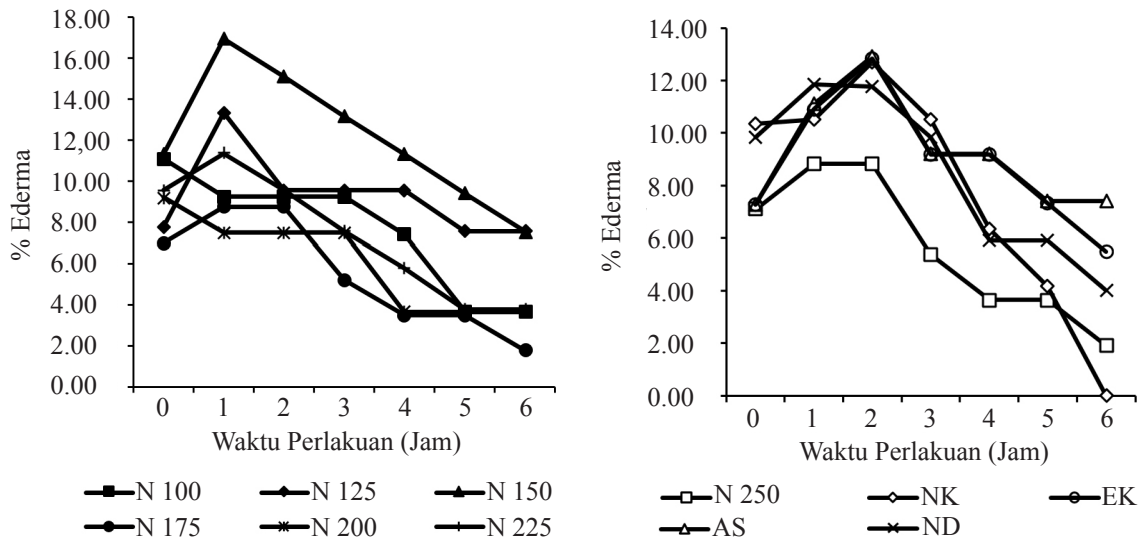
Karakterisasi sediaan emulsi nanokurkuminoid dan nanokosong dilakukan menggunakan alat *particle size analyzer* (PSA) Delsa NanoC (Beckman Coulter). Ukuran partikel dari hasil karakterisasi nanokurkuminoid dan nanokosong yaitu 561.53 dan 354.52, sedangkan indeks polidispersitasnya yaitu 0.309 dan 0.218. Jumlah kurkuminoid yang terjerap ke dalam sistem pembawa berupa asam palmitat dapat ditentukan dengan uji efisiensi penyerapan menggunakan teknik sentrifugasi. Sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan 14000 rpm pada suhu 4 °C selama 40 menit. Pelet yang dihasilkan dari proses sentrifugasi diambil kemudian dilakukan pencucian terhadap pelet, selanjutnya dilakukan sentrifugasi ulang dengan kondisi yang sama. Supernatan hasil sentrifugasi yang kedua diambil kemudian diencerkan sebanyak 5x untuk dibaca absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 425 nm. Berdasarkan nilai absorbansi yang diperoleh dapat diketahui konsentrasi kurkuminoid yang terjerap dan efisiensi penyerapan nanokurkuminoid, yaitu

dengan menggunakan persamaan linier kurva standar ekstrak kurkuminoid. Besarnya konsentrasi dan efisiensi penyerapan nanokurkuminoid dalam penelitian ini yaitu 0.61 ± 0.031 mg/mL dan $58.93 \pm 3.021\%$. Nilai efisiensi penyerapan ini lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Ekaputra (2013) yaitu 86.02%.

Daya Antiinflamasi

Induksi karagenan 1% menyebabkan terjadinya pembengkakan pada kaki tikus, yang ditandai dengan meningkatnya volume kaki tikus setelah induksi karagenan 1% (Gambar 2). Pada jam pertama setelah pemberian perlakuan terlihat bahwa semua perlakuan masih mengalami pembengkakan (edema) kecuali perlakuan nanokurkuminoid 100 dan 200 mg/Kg BB mengalami penurunan edema sedangkan perlakuan nanokosong tetap pada kondisi awal. Perlakuan nanokurkuminoid 150 mg/Kg BB mengalami kenaikan edema yang lebih besar dibandingkan dengan kontrol negatif. Pada jam ke-2 untuk perlakuan nanokurkuminoid 125, 150 dan 225 mg/Kg BB mengalami penurunan edema, sedangkan perlakuan lainnya tetap pada kondisi yang sama kecuali perlakuan nanokosong, air saline dan ekstrak kurkuminoid masih mengalami kenaikan edema. Pada jam ke-3 semua perlakuan mengalami penurunan edema kecuali nanokurkuminoid 100, 125 dan 200 mg/Kg BB masih berada pada kondisi yang sama. Pada jam ke-4 semua perlakuan sudah mengalami penurunan edema hingga jam ke-6. Perlakuan ekstrak kurkuminoid memiliki pola % edema yang hampir sama dengan perlakuan air saline, begitu pula dengan perlakuan nanokurkuminoid 175 dan 250 mg/Kg BB juga memiliki pola yang sama.

Berdasarkan nilai volume edema yang

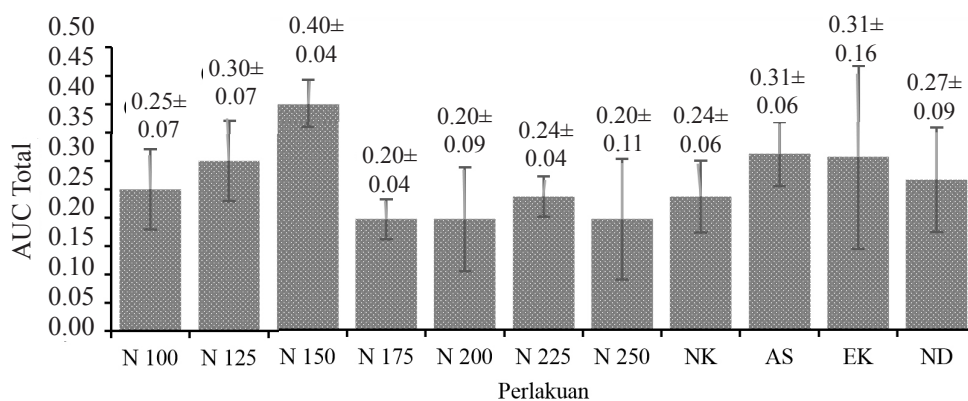


Gambar 2 Kurva % edema. Nanokurkuminoid (N), nanokosong (NK), ekstrak kurkuminoid (EK), natrium diklofenak (ND)

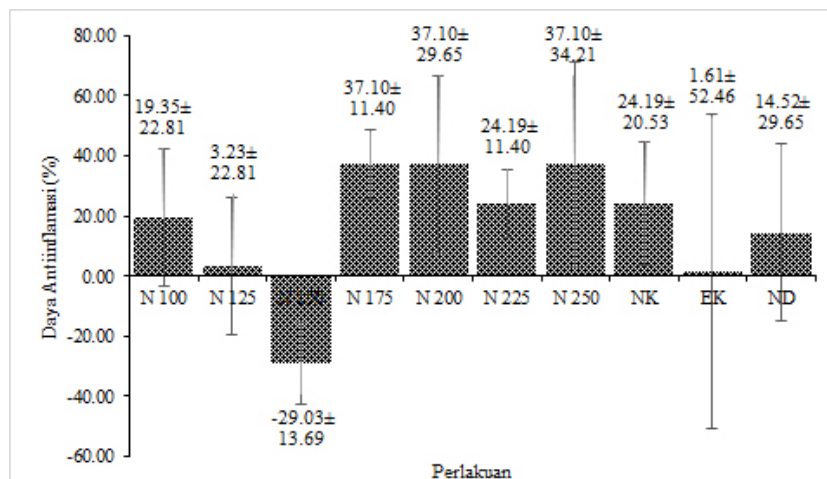
diperoleh dapat dihitung nilai AUC pada setiap perlakuan dengan metode trapezoid. Nilai AUC total (Gambar 3) untuk setiap perlakuan secara keseluruhan lebih kecil dibandingkan dengan kontrol negatif kecuali perlakuan nanokurkuminoid 150 mg/Kg BB.

Nilai AUC total ini digunakan untuk menghitung persentase daya antiinflamasi (Gambar 4) yaitu dari perbandingan nilai AUC kontrol negatif dengan nilai AUC perlakuan. Perlakuan dengan menggunakan nanokurkuminoid 175, 200 dan 250 mg/Kg BB memiliki persentase daya antiinflamasi paling besar

(37.10%) dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Berikut ini berturut-turut persentase daya antiinflamasi dari nilai yang terbesar ke terkecil yaitu nanokurkuminoid 175, 200, 250, 225 mg/Kg BB, nanokosong, nanokurkuminoid 100 mg/Kg BB, natrium diklofenak, ekstrak kurkuminoid, natrium diklofenak, nanokurkuminoid 125 dan 150 mg/Kg BB. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan dengan menggunakan nanokurkuminoid tidak berbeda nyata ($P>0.05$) dengan perlakuan nanokosong, ekstrak kurkuminoid dan natrium diklofenak.



Gambar 3 AUC Total. Nanokurkuminoid (N), nanokosong (NK), ekstrak kurkuminoid (EK), natrium diklofenak (ND)



Gambar 4. Daya antiinflamasi. Nanokurkuminoid (N), nanokosong (NK), ekstrak kurkuminoid (EK), natrium diklofenak (ND)

4. PEMBAHASAN

Curcuma xanthorrhiza Roxb, biasa dikenal sebagai temulawak di Indonesia. Temulawak secara luas digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati beberapa penyakit. Warna kuning pada temulawak dikarenakan adanya senyawa polifenol kurkuminoid, yang merupakan salah satu senyawa bioaktif. Ekstrak etanol temulawak berupa kurkuminoid terdiri dari 3 jenis kurkumin, yaitu kurkumin (biasa disebut kurkumin I atau diferuloilmetana), demetoksikurkumin (kurkumin II), dan bisdemetoksikurkumin (kurkumin III).

Pada penelitian ini digunakan ekstrak etanol kurkuminoid yang berasal dari Ciemas yang diperoleh dari proses ekstraksi yang dilakukan oleh Permasku 2014. Kadar kurkuminoid total yang terkandung dalam rimpang temulawak asal Ciemas ini yaitu sebesar 67.043 mg/g, yang terdiri dari 1.87 mg/g bisdemetoksikurkumin, 20.92 mg/g demetoksikurkumin, dan 44.26 mg/g kurkumin dengan nilai LC_{50} sebesar 90.331 $\mu\text{g/mL}$, yang artinya toksisitas dari pasta kurkuminoid ini cukup rendah (Permasku 2014).

Nanokurkuminoid tersalut asam palmitat dibuat dengan mencampurkan fasa lemak (asam palmitat dan pasta kurkuminoid) dengan fasa air (poloksamer 188 dan air RO pH 7) pada suhu 75 °C. Pengaturan suhu merupakan hal yang sangat penting dalam pembuatan nanopartikel lemak padat. Umumnya fasa lemak dipanaskan pada suhu $\pm 10^\circ\text{C}$ di atas titik leleh asam lemak (Anton *et al.* 2008). Pada penelitian ini digunakan suhu 75°C atau 12°C di atas titik leleh asam palmitat (63°C) dimana fasa lemak berada dalam kondisi cair sehingga mudah terdispersi kedalam fasa cair yang distabilkan oleh pengemulsi (Mujib 2011).

Metode homogenisasi tekanan tinggi dan ultrasonikasi intensitas tinggi, merupakan metode yang biasa digunakan untuk membuat nanopartikel karena menggunakan alat sederhana. Tahapan homogenisasi dilakukan setelah pencampuran formulasi menggunakan alat *homogenizer* bertekanan tinggi dengan kecepatan 13500 rpm selama 5 menit. Homogenisasi ini dirancang untuk memaksa makroemulsi melewati celah-celah sempit dengan memberikan tekanan tinggi (Anton *et al* 2008).

Menurut Ekaputra (2013) kondisi ini merupakan kondisi optimal untuk menghasilkan nanokurkuminoid yang memiliki ukuran dan indeks polidispersitas yang cukup baik.

Tahapan ultrasonikasi dilakukan setelah terbentuk emulsi nanokurkuminoid dengan amplitudo 20% selama 1 jam, yang bertujuan untuk menyeragamkan emulsi nanokurkuminoid yang besar menjadi partikel yang lebih kecil. Menurut Mujib (2011) kondisi amplitudo yang lebih rendah dan waktu yang lebih lama dapat menghasilkan nanokurkuminoid yang stabil, yaitu terlihat pada emulsi yang dihasilkan dengan tidak adanya endapan pada bagian dasar tabung (Gambar 1).

Hasil uji PSA terhadap nanokurkuminoid dan nanokosong berturut-turut menunjukkan bahwa sediaan yang dibuat berada pada ukuran 561.53 nm dan 354.52 nm. Ukuran partikel yang kecil biasanya lebih cepat larut dan menyebabkan viskositas suspensi menjadi lebih tinggi daripada ukuran yang besar sehingga meningkatkan stabilitas suspensi dan emulsi, meningkatkan proses penyerapan kurkumin di dalam tubuh melalui pemberian oral. Ukuran partikel obat sekitar 200 nm memungkinkan penyerapan yang efisien di dalam usus, khususnya di bagian jaringan limfoid. Ukuran partikel >500 nm dilaporkan menunjukkan proses pengiriman obat yang kurang baik dan target obat yang terbatas (Ravichandran 2013, Harde *et al* 2011).

Selain ukuran partikel, indeks polidispersitas juga merupakan indikator penting untuk menilai kualitas sediaan nanokurkuminoid. Indeks polidispersitas (IP) merupakan nilai yang menyatakan lebarnya distribusi ukuran partikel, keseragaman dan ketahanan suatu emulsi. Nilai IP kurang dari 0.3 menunjukkan bahwa sampel memiliki distribusi yang sempit, dan nilai

IP yang lebih besar dari 0.3 menunjukkan distribusi yang lebar (Yen *et al.* 2008). Semakin kecil nilai indeks polidispersitas menunjukkan distribusi ukuran partikel yang semakin sempit, yang berarti ukuran diameter partikel semakin homogen. Indeks polidispersitas yang diperoleh dalam penelitian yaitu nanokurkuminoid (0.309) dan nanokosong (0.218). Nanopartikel dikatakan baik jika memiliki nilai IP kurang dari 0.3, yang artinya nanopartikel tersebut memiliki partikel yang seragam dan memiliki stabilitas yang besar sehingga dapat mempertahankan kondisinya pada saat penyimpanan dalam jangka waktu yang lebih lama. Studi stabilitas yang dilakukan oleh Ekaputra (2013) menyatakan bahwa nanokurkuminoid tersalut asam palmitat dengan ukuran partikel rata-rata sebesar 166.17 ± 39.64 nm dan nilai indeks polidispersitas rata-rata sebesar 0.20 ± 0.06 ini stabil ketika disimpan selama 60 hari di dalam lemari pendingin pada suhu 4°C.

Efisiensi penyerapan adalah perbandingan antara jumlah obat yang terjerap ke dalam sistem pembawa dengan jumlah obat yang ditambahkan. Efisiensi penyerapan umumnya dinyatakan dalam persen obat yang terjerap dalam fasa lemak (matriks lemak + obat) (Müller *et al.* 2000). Jumlah kurkuminoid yang terjerap dapat ditentukan dengan pemisahan kurkuminoid dari medium pendispersi dengan teknik sentrifugasi. Sentrifugasi yang pertama bertujuan untuk memisahkan kurkuminoid yang tidak terjerap. Pelet yang diperoleh dari sentrifugasi pertama diambil dan ditambahkan pelarut kurkuminoid (metanol : air) hingga 1 mL, kemudian di sentrifugasi kembali dengan kondisi yang sama. Sentrifugasi yang kedua bertujuan untuk memisahkan kurkuminoid dari medium pendispersinya (matriks lemak). Besarnya konsentrasi nanokurkuminoid

yang terjepit dan efisiensi penyerapan yang diperoleh dalam penelitian ini yaitu 0.61 ± 0.031 mg/mL dan $58.93 \pm 3.021\%$. Nilai efisiensi penyerapan ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ekaputra (2013) yaitu 86.02% . Faktor-faktor yang menentukan besarnya efisiensi penyerapan obat dalam lemak, yaitu kelarutan obat dalam lemak yang mencair, proses pencampuran antara obat dan lemak yang mencair, struktur kimia dan fisika dari matriks lemak padat, serta bentuk polimorfik lemak (Müller *et al.* 2000). Untuk menghasilkan nilai efisiensi penyerapan yang maksimum, perlu dilakukan 2-3 kali sentrifugasi pada pelet nanokurkuminoid. Hal ini dikarenakan, diduga masih ada sisa kurkuminoid yang terjepit di dalam pelet.

Aktivitas antiinflamasi sediaan emulsi nanokurkuminoid diuji terhadap tikus *Sprague Dawley* dengan melihat kemampuannya dalam mengurangi pembengkakan (edema) pada kaki tikus akibat induksi karagenan 1%. Perlakuan ini dapat bertahan selama 6 jam dan akan berangsur-angsur berkurang dalam waktu 24 jam, sehingga pada penelitian ini dilakukan pengukuran edema setiap 1 jam selama 6 jam dengan menggunakan alat plethysmometer rakitan dengan skala volume 0.02 mL. Pada penelitian ini, semua perlakuan diberikan induksi karagenan 1% pada telapak kaki tikus, kemudian di berikan perlakuan berupa sediaan yang bersifat sebagai antiinflamasi, kecuali pada kontrol negatif yang hanya diberikan air saline fisiologis (NaCl 0.9%). Perlakuan yang menggunakan air saline fisiologis ini bersifat netral bagi tubuh dan tidak memberikan efek antiinflamasi sehingga digunakan sebagai pembanding untuk perlakuan yang tidak memberikan efek antiinflamasi.

Natrium diklofenak dalam penelitian ini

digunakan sebagai pembanding (kontrol positif) yang secara komersial telah terbukti memiliki khasiat antiinflamasi. Diklofenak adalah turunan fenilasetat, obat ini merupakan penghambat siklooksigenase yang relatif non selektif dan kuat, serta mampu mengurangi bioavailabilitas asam arakidonat. Obat ini memiliki efek antiinflamasi, analgesik, dan antipiretik (Katzung 2004). Persentase daya antiinflamasi yang diperoleh natrium diklofenak ini lebih kecil (14.52 ± 29.65) jika dibandingkan dengan perlakuan menggunakan nanokurkuminoid.

Kurva volume edema untuk perlakuan dengan menggunakan nanokurkuminoid umumnya meningkat pada jam ke-1 dan ke-2, kemudian turun pada jam ke-3 hingga jam ke-6. Pada dosis 125 mg/Kg BB dan 150 mg/Kg BB, kurva volume edema hampir sama dengan kurva pada kontrol negatif, sehingga menghasilkan daya antiinflamasi yang kecil ($3.23 \pm 22.81\%$) atau tidak menunjukkan daya antiinflamasi ($-29.03 \pm 13.69\%$). Pada dosis 100, 175, 200, 225, 250 mg/Kg BB nanokurkuminoid, kurva volume edema berada dibawah kurva kontrol negatif sehingga memiliki daya antiinflamasi yang lebih baik secara berturut-turut yaitu $19.35 \pm 22.81\%$, $37.10 \pm 11.40\%$, $37.10 \pm 29.65\%$, $24.19 \pm 11.40\%$, $37.10 \pm 34.21\%$. Pada penelitian ini perlakuan menggunakan nanokurkuminoid pada dosis 175, 200, dan 250 mg/Kg BB memiliki persentase daya antiinflamasi yang paling besar dibandingkan dengan ekstrak kurkuminoid dan kontrol positif tetapi secara statistik persentase daya antiinflamasi pada perlakuan nanokurkuminoid tidak berbeda nyata ($P > 0.05$) dengan perlakuan lainnya. Jika ditinjau dari konsentrasi senyawa aktif yang digunakan (Tabel 1) pada ekstrak kurkuminoid (100 mg/Kg BB), kontrol positif dan nanokurkuminoid (175, 200 dan 250 mg/

Kg BB), terdapat perbedaan yang sangat signifikan. Pada ekstrak kurkuminoid dan kontrol positif menggunakan senyawa aktif berturut-turut sebanyak 45200±282.84 dan 3040±56.57 ppm, sedangkan nanokurkuminoid 175, 200 dan 250 mg/Kg BB menggunakan bahan aktif sebanyak 89.96±1.98, 97.60±10.75, 125.50±2.12 ppm. Dapat disimpulkan bahwa pemberian nanokurkuminoid dengan jumlah senyawa aktif yang rendah memberikan efek yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak kurkuminoid dan kontrol positif.

Nanokurkuminoid lebih baik dari pada ekstrak kurkuminoid dan kontrol positif dikarenakan bioavailabilitasnya yang tinggi dengan komposisi bio-lipid (lemak), yang mampu melewati hambatan biologis dengan lebih mudah sehingga dapat memberikan efek terapi yang ditandai dengan besarnya persentase daya anti-inflamasi pada sediaan nanokurkuminoid (Qi *et al* 2012), sedangkan pada ekstrak kurkuminoid memiliki bioavailabilitas yang rendah dimana ketika 10-12 g/mL kurkumin yang diberikan secara oral pada manusia, kadar kurkumin yang terdeteksi pada serum darah manusia hanya sekitar 50 ng/mL (Lao *et al* 2006). Kemampuan

nanokurkuminoid sebagai antiinflamasi dipengaruhi oleh sifat kurkumin yang terkandung di dalam nanokurkuminoid yang dapat mencegah aktivasi NF-kB yang disebabkan oleh berbagai agen melalui penghambatan translokasi p65 ke nukleus dan menekan degradasi IκBα pada berbagai jenis sel. Faktor transkripsi eukariot NF-kB ini memainkan peranan pokok dalam inflamasi umum serta respon imun. Wilayah 5' yang mengapit promoter COX-2 berisi sisi ikatan NF-kB, sehingga NF-kB terbukti sebagai regulator penting dari ekspresi COX-2 pada saat terjadinya inflamasi (Chun *et al* 2003). Penghambatan aktivasi NF-kB oleh kurkumin menekan ekspresi berbagai macam sel dan gen proliferasi, termasuk enzim COX-2 (Aggarwal *et al* 2004) sehingga dapat menurunkan kadar prostaglandin yang berperan sebagai mediator inflamasi yang menyebabkan rasa nyeri.

Perlakuan dengan menggunakan nanokosong 250 mg/Kg BB memiliki daya antiinflamasi yang lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif dan ekstrak kurkuminoid yaitu 24.19±20.53%. Komposisi dari nanokosong yaitu 0.5 gram poloksamer 188; 1.0 gram asam palmitat; dan 100 mL air RO. Poloksamer

Tabel 1 Konsentrasi senyawa aktif yang digunakan pada perlakuan

No	Dosis Perlakuan	Konsentrasi (ppm)
1.	Nanokurkuminoid 100 mg/Kg BB	49.50±2.12
2.	Nanokurkuminoid 125 mg/Kg BB	60.13±2.30
3.	Nanokurkuminoid 150 mg/Kg BB	75.00±2.97
4.	Nanokurkuminoid 175 mg/Kg BB	89.96±1.98
5.	Nanokurkuminoid 200 mg/Kg BB	97.60±10.75
6.	Nanokurkuminoid 225 mg/Kg BB	117.45±8.91
7.	Nanokurkuminoid 250 mg/Kg BB	125.50±2.12
8.	Nano Kosong 250 mg/Kg BB	118.50±4.24
9.	Air Salin (NaCl 0.9%)	9000±0.00
10.	Ekstrak Temulawak 100 mg/Kg BB	45200±282.84
11.	Natrium Diklofenak 75 mg/Kg BB	3040±56.57

188 merupakan surfaktan yang diketahui dapat menghambat ekspresi gen pada target obat antiinflamasi yaitu fosfolipase A2 dan COX-2 (Hunter *et al.* 2010). Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan poloksamer 188 sebagai surfaktan dapat meningkatkan efek antiinflamasi pada formulasi nanokurkuminoid, terlihat dari nilai daya antiinflamasi nanokurkuminoid 250 mg/Kg BB yang lebih besar dibandingkan dengan nanokosong 250 mg/Kg BB.

Berdasarkan hasil penelitian, nanokurkuminoid 175, 200 dan 250 mg/Kg BB memiliki daya antiinflamasi yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol positif (natrium diklofenak) dan ekstrak kurkuminoid sebesar 37.10%. Perlu dilakukan pengujian ulang pada ketiga dosis tersebut dikarenakan kesamaan persentase daya antiinflamasi yang diperoleh yaitu dengan menggunakan ulangan yang lebih banyak dan dalam jumlah ganjil agar diperoleh satu dosis yang efektif sebagai agen antiinflamasi. Uji lanjut terkait enzim yang berperan pada proses terjadinya inflamasi (enzim COX-1 dan COX-2) juga perlu dilakukan untuk menentukan efek penghambatan nanokurkuminoid pada kedua enzim tersebut.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Institut Pertanian Bogor yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian ini melalui Hibah Penelitian Batch I Program Penelitian Riset Andalan Perguruan Tinggi dan Industri (RAPID) tahun anggaran 2015 nomor: 083/SP2H/PL/Dit.Litabmas/II/2015.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Aggarwal S, Takada Y, Singh S, Myers JN, Aggarwal BB. 2004. Inhibition of growth and survival of human head and neck squamous cell carcinoma cells by curcumin via modulation of nuclear factor-kappaB signaling. *Int J Cancer*. 111:679–92.
- Amdekar S, Roy P, Singh V, Kumar A, Singh R, Sharma P. 2012. Anti-inflammatory activity of *Lactobacillus* on carrageenan-induced paw edema in male wistar rats. *International Journal of Inflammation*.
- Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal BB. 2007. Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular Pharmaceutics*. 4:807-818.
- Anton N, Benoit JP, Saulnier P. 2008. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates – A Review. *Journal of Controlled Release* 128: 185–199.
- Basnet P, Basnet NS. 2011. Curcumin : an anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. *Molecule*. 16:4567-4598. Chun KS, Keum YS, Han SS, Song YS, Kim SH, Surh YJ. 2003. Curcumin inhibits phorbol ester-induced expression of cyclooxygenase-2 in mouse skin through suppression of extracellular signal-regulated kinase activity and NF-kB activation. *Carcinogenesis*. 24(9):1515-1524.
- Devaraj S, Ismail S, Ramanathan S, Yam MF. 2014. Investigation of antioxidant and hepatoprotective activity of standardized *Curcuma xanthorrhiza* rhizoma in carbon tetrachloride-induced hepatic damaged rats. *The Scientific World Journal*.
- Ekaputra, HR. 2013. Optimisasi dan karakterisasi nanokurkuminoid tersalut asam palmitat [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Haghighi M, Khalvat A, Toliati T, Jallaei S. 2005. Comparing the effects of ginger (*Zingiber officinale*) extract and ibuprofen on patients with osteoarthritis. *Archives of Iranian Medicine*. 8(4):267-271.
- Harde H, Das M, Jain S. 2011. Solid lipid nanoparticles: an oral bioavailability enhancer vehicle. *Informa Healthcare Journal*. 8(11):1407-1424.

- Hunter RL, Luo AZ, Zhang R, Kozar RA, Moore FA. 2010. Poloxamer 188 inhibition of ischemia/reperfusion injury : evidence for a novel anti-adhesive mechanism. *Annals of Clinical & Laboratory Science*. 4(2):115-125.
- Jawahar N, Meyyanathan SN, Reddy G, Sood S. 2012. Solid lipid nanoparticles for oral delivery of poorly soluble drugs. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 4(7):1848-1855.
- Katzung BG. 2004. *Farmakologi dasar dan klinik edisi 8*. Jakarta (ID): Salemba Medika.
- Kim MB, Kim C, Song Y, Hwang JK. 2014. Antihyperglycemic and anti-inflammatory effects of standardized *Curcuma Xanthorrhiza* roxb. extract and its active compound xanthorrhizol in high-fat diet-induced obese mice. *Hindawi*. 2014:1-10.
- Lakkireddy JS, Adhikari BSR, Dwarkanath *et al.* 2006. Tumoricidal effects of etoposide incorporated into solid lipid nanoparticles after intraperitoneal administration in dalton's lymphoma bearing mice. *The APPS Journal*. 8(2):29.
- Lao CD, Ruffin IV MT, Normolle D, Heath DD, Murray SI, Bailey JM, Crowell MJ, Rock CL, Brenner DE. 2006. Dose escalation of a curcuminoid formulation. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 6(10):1-4.
- Maulia P. 2014. Aktivitas antiinflamasi sediaan nanopartikel ekstrak kurkuminoid temulawak tersalut asam palmitat secara *in vivo* [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Mujib MA. 2011. Pencirian nanopartikel kurkuminoid tersalut asam lemak padat [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Müller RH, Mäder K, Gohla S. 2000. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 50:161-177.
- Nathan C. 2002. Points of control in inflammation. *Nature*. 420:846-885.
- Permasku G. 2014. Aktivitas ekstrak kurkuminoid rimpang temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* roxb) dari berbagai aksesori terhadap inhibisi enzim α -glukosidase secara *in vitro* [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Qi J, Lu Y, Wu W. 2012. Absorption, disposition and pharmacokinetics of solid lipid nanoparticles. *Current Drug Metabolism*. 13:418-428.
- Ravichandran R. 2013. Pharmacokinetic study of nanoparticulate curcumin : oral formulation for enhanced bioavailability. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*. 4:291-299.
- Ricciotti E, Fitzgerald GA. 2011. Prostaglandin and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 31(5):986-1000.
- Tiyaboonchai W, Tungpradit W, Plianbangchang P. 2007. Formulation and characterization of curcuminoids loaded solid lipid nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*. 337:299-306.
- Wang W, Zhu R, Xie Q, Li A, Xiao Y, Li K, Liu H, Cui D, Chen Y, Wang S. 2012. Enhanced bioavailability and efficiency of curcumin for the treatment of asthma by its formulation in solid lipid nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*. 7:3667-3677.
- Yadav SK, Sah AK, Jha RK, Sah P, Shah DK. 2013. Turmeric (curcumin) remedies gastroprotective action. *Pharmacogn Rev*. 7(13):42-46.
- Yadav VR, Suresh S, Devi K, Yadav S. 2008. Novel formulation of solid lipid microparticles of curcumin for anti-angiogenic and anti-inflammatory activity for optimization of therapy of inflammatory bowel disease. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 61:311-321.
- Yen FL, Wu TH, Lin LT, Cham TM, Lin CC. 2008. Nanoparticles formulation of *Cucuta chinensis* prevents acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 46:1771-1777.