

## Karagenin sebagai Model Inflamasi pada Kulit Punggung Mencit: Gambaran Makroskopik dan Histopatologis

### *Carrageenan as a Model of Back Skin Inflammation in Mouse: Pathological Features*

Sitarina Widyarini<sup>\*1</sup>, Sugiyono<sup>1</sup>, Yuli Purwandari Kristiangingrum<sup>1</sup>, Bambang Sutrisno<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departemen Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

\*Email : [sitarina@ugm.ac.id](mailto:sitarina@ugm.ac.id)

Diterima : 30 Desember 2020, direvisi : 29 November 2022, disetujui : 29 November 2022

#### Abstract

This study aims to create a model of dorsal skin inflammation in mice using carrageenan with various concentrations. Forty-five female Swiss mice with the aged of 8 weeks were used in this study. These mice were divided into three groups of 15. Group I, II and III was given subcutaneous injection of 1%, 2% and 4% carrageenan respectively on the dorsum. Carrageenan was dissolved in 0.9% buffer saline with 0.1 mL volume injection. Prior to carrageenan injection, dorsal skin-fold thickness was measured using calipers and then was repeated every hour up to 6 hours. At the end of the sixth hour of measuring skin-fold thickness, animal was sacrificed, the dorsal skin was excised and then was fixed in 10% buffer formalin for histopathological examination. Data from skin-fold thickness measurement was analyzed using *Two Ways Anova* followed by *Tukey HSD* test. Results of this study demonstrate that there was a significant difference in skin-fold thickness between treatment groups ( $p < 0.05$ ). Sub cutaneous injection of 1%, 2% and 4% carrageenan resulted in increasing skin-fold thickness approximately 35%, 50% and 61% at the one-hour post carrageenan injection respectively ( $p < 0.05$ ). Skin-fold thickness gradually decreased at the second to the sixth hour after carrageenan injection. Histopathological examination shows mild and moderate dermal inflammation in the group given 1% and 2% carrageenan respectively. Severe dermal and panniculus inflammation was found in the group given 4% carrageenan. To conclude, carrageenan could be used to induce inflammation in back skin of mice.

**Keywords:** carrageenan; inflammation skin-fold thickness; skin

#### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk membuat model inflamasi kulit pada punggung mencit betina galur Swiss umur 8 minggu dengan menggunakan karagenin dengan berbagai konsentrasi. Pada penelitian ini digunakan 45 ekor mencit betina galur Swiss umur 2 bulan yang dibagi dalam tiga kelompok secara acak. Kelompok I diberi karagenin 1%. Kelompok II diberi karagenin 2%, dan kelompok III diberi karagenin 4%. Induksi inflamasi dengan karagenin dilakukan melalui injeksi sub kutan karagenin dengan volume 0,1 mL pada kulit punggung mencit. Sebelum dilakukan injeksi karagenin tebal lipat kulit (*skin-fold thickness*) diukur dengan menggunakan jangka sorong digital. Selanjutnya tebal lipat kulit diukur setiap jam setelah injeksi sampai dengan jam ke- 6 pasca injeksi. Hewan coba dieutanasi dengan cara dislokasi servikalis pada akhir jam ke-6. Organ kulit diambil dengan memotong kulit pada area dimana injeksi karagenin dilakukan dan selanjutnya diawetkan dengan formalin 10% untuk pemeriksaan histopatologis dengan pewarnaan hematoxylin eosin. Analisis data tebal lipat kulit dianalisis dengan *Two Ways Anova* dan diikuti dengan *post hoc test Tukey test*. Hasil penelitian menunjukkan perbedaan bermakna pada tebal lipat kulit antar kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ).

Injeksi subkutan karagenin 1%, 2% dan 4% meningkatkan tebal lipatan kulit sebesar 35%, 50% dan 60% pada jam pertama pasca injeksi ( $p < 0,05$ ). Inflamasi *mild* dan *moderate* pada bagian dermis ditemukan pasca injeksi karagenin 1% dan 2%. Inflamasi parah/*severe* pada bagian dermis dan panikulus ditemukan pasca injeksi karagenin 4%. Karagenin dapat dipakai sebagai model inflamasi akut pada kulit punggung mencit.

**Kata kunci:** inflamasi; karagenin; kulit, *skin-fold thickness*

## Pendahuluan

Istilah inflamasi berasal dari kata Bahasa Latin *inflammare* yang berarti terbakar (Ravikiran *et al.*, 2012). Inflamasi ditandai dengan perubahan klinis berupa *tumor*, *dolor*, *calor*, *rubor* dan *function laesa* (Stankov, 2012). Menurut Medzhitov (2010), Ferrero-Miliani *et al.*, (2007), dan Chen *et al.*, (2018), inflamasi adalah respon sistem imun terhadap stimulus yang bersifat merusak (seperti agen penyakit, sel yang mati, senyawa toksik dan radiasi), dan beraksi dengan cara membersihkan penyebab kerusakan dan menginisiasi proses kesembuhan. Berkaitan dengan kesehatan, inflamasi merupakan mekanisme pertahanan yang vital (Nathan dan Ding, 2010). Inflamasi akut merupakan lini pertama dalam pertahanan tubuh dan merupakan bagian dari *innate immunity*. Selama proses inflamasi akut, terjadi minimal interaksi seluler dan faktor molekuler pada lokasi yang mengalami kerusakan. Minimal proses interaksi tersebut bertujuan untuk membantu perbaikan homeostasis dan resolusi jaringan pada fase inflamasi akut. Namun demikian inflamasi akut yang tidak terkontrol akan menjadi kronis dan akan berkontribusi dalam munculnya beragam penyakit inflamasi kronis (Zhou *et al.*, 2016).

Pengembangan model inflamasi pada hewan coba telah banyak dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui produksi mediator inflamasi pada lokasi terjadinya inflamasi, dan untuk mengetahui aktivitas dan efikasi obat-obatan anti inflamasi seperti anti inflamasi non steroid (NSAIDs) (Fehrenbacher *et al.*, 2012). Salah satu bahan yang dipakai untuk aktivasi jalur inflamasi adalah karagenin. Karagenin adalah polisakarida tersulfatasi yang diperoleh dari rumput laut merah (*Rhodophyceae*) (Necas dan Bartosikova, 2013) dan secara luas telah digunakan sebagai *thickener*, *stabilizer*, maupun agen pengemulsi dalam pengolahan makanan

termasuk produk *dairy* dan kosmetik (Marcus *et al.*, 1981; Tobacman, 2001; Watt *et al.*, 1981; Cohen dan Ito, 2002). Karagenin dilaporkan oleh beberapa peneliti sebagai model untuk penelitian inflamasi pada marmut, tikus dan mencit (Kitsukawa *et al.*, 1992; Fehrenbacher *et al.*, 2012; Necas dan Bartosikova, 2013). Selain digunakan untuk model inflamasi, karagenin juga dilaporkan dapat memicu terjadinya tumor kolorektal dan colitis ulseratif pada tikus, marmut, babi, mencit dan kera (Kitsukawa *et al.*, 1992; Sharratt *et al.*, 1970; Poulsen, 1973; Mailet *et al.*, 1970).

Injeksi subkutan karagenin menyebabkan inflamasi lokal yang mencirikan dengan tanda-tanda inflamasi yaitu *tumor*, *calor*, *dolor*, *rubor* dan *function laesa* (Winter *et al.*, 1962; Stein *et al.*, 1988). Model inflamasi dengan karagenin sebagai iritan digunakan untuk memicu inflamasi yang sifatnya sementara (*transient inflammation*) (Fehrenbacher *et al.*, 2012). Selanjutnya dengan menggunakan karagenin sebagai model inflamasi dapat dipakai untuk mengobservasi inflamasi yang terjadi pada hewan model dan sebagai metode untuk memonitor respon inflamasi akibat pemberian obat anti inflamasi pada hewan coba. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa karagenin banyak dipakai sebagai model untuk evaluasi inflamasi pada telapak kaki mencit/ *mouse paw oedema* (Sini *et al.*, 2010). Lebih dari 400 literatur melaporkan penggunaan model *mouse paw oedema* untuk evaluasi inflamasi (Posadas *et al.*, 2004).

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap inflamasi pada kulit punggung mencit Swiss yang diinjeksi karagenin dengan beragam konsentrasi yaitu 1%, 2% dan 4%. Pengamatan untuk mengetahui inflamasi pada kulit dengan mengukur tebal lipatan kulit punggung mencit (*skin-fold thickness*) sesuai dengan modifikasi metoda untuk pengukuran inflamasi akibat paparan ultraviolet (Widyarini *et al.*, 2001), dan secara deskriptif terhadap respon radang

dan edema pada jaringan kulit. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk pengembangan model inflamasi kulit pada hewan coba dengan menggunakan induksi bahan kimia. Selanjutnya model ini dapat digunakan untuk pengujian anti inflamasi topikal dari bahan uji yang berasal dari bahan alam/ herbal maupun sintetis.

### **Materi dan Metode**

Penelitian ini menggunakan mencit betina galur Swiss umur 8 minggu yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada. Bahan lainnya yang digunakan dalam penelitian ini adalah karagenin tipe I (Sigma Chemical Co., USA) yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, larutan NaCl fisiologis 0,9%, Veet<sup>R</sup> cream (Reckitt Benckiser, Germany). Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah spuit 1 mL, timbangan analitik, gelas pengaduk, vortex, stopwatch, jangka sorong digital (Wipro, China), gunting, kontener plastik, label untuk kontener plastik, formalin 10%, serta peralatan untuk *tissue processing* dan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE) (Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada).

Penelitian ini menggunakan mencit betina sejumlah 15 ekor. Sebelum dilakukan penelitian hewan uji dicukur bulunya dengan gunting dan selanjutnya dioleskan Veet<sup>R</sup> untuk merontokkan bulu yang belum tercukur secara sempurna. Hewan coba yang sudah dicukur dibiarkan selama 1 hari untuk istirahat dengan diberi pakan hewan coba dan air minum *ad libitum* sebelum penelitian dimulai. Selama penelitian hewan coba dipelihara di kandang hewan Departemen Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada.

Lima belas ekor mencit Swiss betina dibagi dalam 3 kelompok perlakuan. Kelompok I diinjeksi sub kutan dengan karagenin konsentrasi 1%/0,1 mL NaCl fisiologis 0,9%, kelompok II diinjeksi sub kutan dengan karagenin 2%/0,1 mL NaCl fisiologis 0,9%, dan kelompok III diinjeksi sub kutan dengan karagenin 4%/0,1 mL NaCl fisiologis 0,9%. Sebelum dilakukan injeksi dilakukan pengukuran tebal lipatan kulit

punggung (*skinfold thickness*) pra perlakuan dengan menggunakan jangka sorong digital. Pengukuran tebal lipatan kulit punggung (*skinfold thickness*) dengan modifikasi metoda yang dilaporkan oleh Widyarini *et al.*, (2001). Edema yang muncul diukur dengan cara mengukur tebal lipatan kulit pasca injeksi dengan jangka sorong pada setiap 1 jam selama 6 jam. Seluruh data pengukuran tebal lipatan kulit dari jam ke-0 (pra injeksi), jam ke-1 sampai dengan jam ke-6 dicatat untuk di analisis.

Setelah pengukuran tebal kulit jam ke-6 selesai diambil datanya, hewan coba dikorbankan dengan cara dislokasi cervical. Selanjutnya jaringan kulit di area injeksi dieksisi dan dimasukkan ke dalam kontener plastik yang berisi formalin 10% untuk pemeriksaan histopatologis dengan pewarnaan HE. Data pengukuran yang diperoleh (tebal lipatan kulit/ edema) per titik waktu dari jam ke-0, ke-1 sampai dengan jam ke-6 dari masing-masing perlakuan. Selanjutnya dilakukan uji *Two Way ANOVA* dengan taraf kepercayaan 95%. dan uji *Post Hoc Tukey HSD* untuk mengetahui perbedaan yang terjadi bermakna atau tidak. Lesi mikroskopik dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan respon inflamasi/ keparahan inflamasi pada kulit (infiltrasi sel radang dan edema pada daerah dermal dan panikulus) antar kelompok yang diberi variasi konsentrasi karagenin dengan pewarnaan HE dengan katagori *mild* (ditandai dengan infiltrasi sel radang dan edema ringan pada dermis), *moderate* (ditandai dengan infiltrasi sel radang dan edema sedang pada dermis) dan *severe* (ditandai dengan infiltrasi dan edema berat pada dermis dan sub kutis). Katagori penilaian secara kualitatif tersebut sesuai yang dilaporkan oleh Kim *et al.*, (2020). Penelitian ini telah mendapatkan kelayakan etik dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta No. 0017/EC-FKH/Int/2020.

### **Hasil dan Pembahasan**

Studi sebelumnya telah melaporkan beragam model untuk menguji aktivitas inflamasi dengan menggunakan beragam bahan kimia maupun agen fisik sebagai induktornya (Vogel, 2002; Widyarini *et al.*, 2001; Fehrenbacher *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2016;

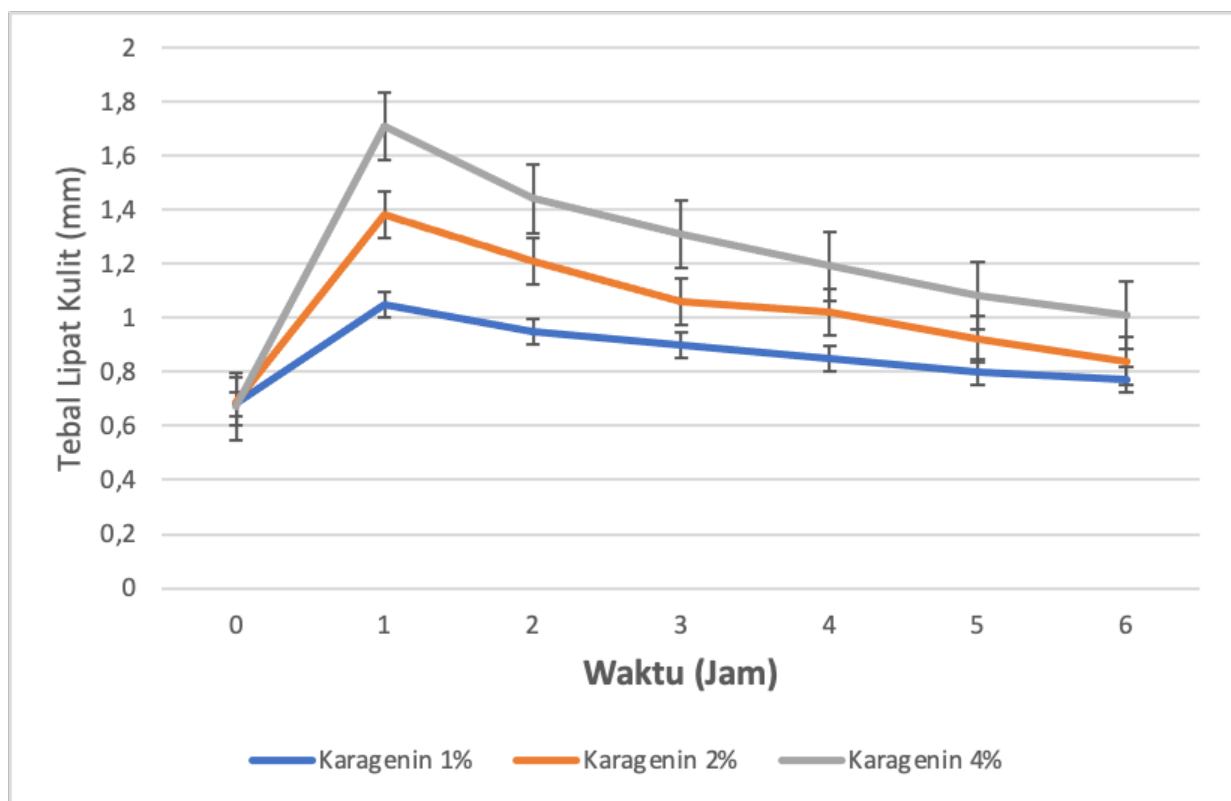
Wei *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2017). Bahan kimia maupun agen fisik telah dilaporkan dapat dipakai untuk membuat model inflamasi kulit dan kolon dari hewan coba (Widyarini *et al.*, 2001; Huang *et al.*, 2014; Wei *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2017). Bahan kimia yang dipakai sebagai induktor adalah formalin, kaolin, ragi, dekstan, *croton oil* (Vogel, 2002), karagenin (Fehrenbacher *et al.*, 2012), kombinasi oxasolone dan karagenin (Wu *et al.*, 2016) dan kombinasi TNBS dan karagenin (Wei *et al.*, 2016). Pada kebanyakan model inflamasi, karagenin diaplikasikan dengan injeksi pada telapak kaki hewan coba dan diberikan secara per oral (Fehrenbacher *et al.*, 2012; Wei *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2016).

Penelitian ini menggunakan tiga variasi konsentrasi karagenin yaitu 1%, 2% dan 4% sebagai model inflamasi pada kulit punggung

mencit Swiss betina. Aplikasi karagenin dengan volume 0,1 mL di injeksikan sub kutan pada kulit punggung mencit. Selanjutnya dilakukan pengamatan untuk mengetahui respon inflamasi pada kulit dengan mengukur tebal lipatan kulit punggung mencit (*skin-fold thickness/ edema*) dan secara deskriptif terhadap respon jaringan kulit secara mikroskopik pasca injeksi karagenin.

Hasil pengamatan tebal lipatan punggung mencit (edema) dapat dilihat pada gambar 1 dan tabel 1.

Pada gambar 1 dapat dilihat rerata tebal lipatan kulit punggung mencit umur 8 minggu sebelum di injeksi karagenin adalah  $0,68 \pm 0,14$  mm, sesuai dengan yang dilaporkan oleh Zendian, (2000). Karagenin pada beberapa penelitian sebelumnya telah dilaporkan sebagai model untuk mengevaluasi respon inflamasi



Gambar 1. Rerata tebal lipatan kulit punggung mencit pasca injeksi dengan karagenin 1%, 2% dan 4%. Jam ke-0 adalah tebal lipatan kulit punggung mencit pra-injeksi karagenin. Jumlah hewan per kelompok perlakuan, n= 5.

Tabel 1. Prosentase tebal lipatan kulit punggung mencit satu jam pasca injeksi karagenin

| Karagenin (%) | Tebal Kulit Awal (mm) | Tebal Kulit Satu Jam Pasca Injeksi (mm) | Prosentase Perubahan (%) |
|---------------|-----------------------|---|--------------------------|
| 1             | 0,68                  | 1,05                                    | 35                       |
| 2             | 0,69                  | 1,38                                    | 50                       |
| 4             | 0,67                  | 1,71                                    | 61                       |



akut dengan menggunakan model edema pada telapak kaki (*paw oedema*). Puncak respon inflamasi pada penelitian ini (ditandai dengan peningkatan tebal lipatan kulit punggung mencit), terjadi pada satu jam setelah induksi karagenin dengan berbagai konsentrasi. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa respon inflamasi karagenin terjadi segera setelah induksi dan akan berkurang setelah dua jam setelah induksi (Suralkar *et al.*, 2008; Umamageswari dan Kudagi, 2015).

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa konsentrasi karagenin yang meningkat (1%-4%), sesuai dengan peningkatan tebal lipatan kulit punggung mencit (Tabel 1). Injeksi subkutan karagenin 1%, 2% dan 4% meningkatkan tebal lipatan kulit punggung mencit sebesar 35 %, 50 % and 61 % pada jam pertama pasca injeksi. Pada jam ke-2 dan selanjutnya akan terjadi penurunan tebal lipatan kulit secara bertahap, namun tetap berbeda antar kelompok perlakuan sampai dengan jam ke-5 pasca injeksi ( $p < 0,05$ ). Pada jam ke-6 tidak ditemukan beda bermakna tebal lipatan kulit punggung pada kelompok yang diberi injeksi karagenin 1% dan 2%; serta 2% dan 4% ( $p > 0,05$ ), namun terdapat beda tebal kulit pada kelompok yang diinjeksi karagenin 1% dan 4% ( $p < 0,05$ ). Penurunan tebal lipatan kulit punggung pada dua jam setelah injeksi karagenin diduga karena sifat bifasik dari karagenin yang dipengaruhi oleh berbagai mediator inflamasi (Necas dan Bartosikova, 2013). Pelepasan histamin dan serotonin segera setelah induksi dan akan berkurang setelah dua jam, diikuti oleh pelepasan bradikinin dan prostaglandin bertahan pada jam ketiga sampai jam kelima setelah induksi (Vinegar *et al.*, 1976; Suralkar *et al.*, 2008). Pelepasan mediator inflamasi tersebut diatas yang berpengaruh terhadap peningkatan dan/ atau penurunan tebal lipatan kulit punggung mencit/ edema pada penelitian ini. Peningkatan tebal lipatan kulit (*skin-fold thickness*) pada penelitian ini berkaitan dengan respon edema yang terbentuk pasca injeksi karagenin.

Pada pengamatan secara makroskopis pasca injeksi dengan berbagai konsentrasi karagenin terlihat adanya erythema/ kemerahan, bengkak dan sedikit perdarahan pada lokasi injeksi. Studi sebelumnya melaporkan bahwa injeksi karagenin sebagai model *paw oedema*

memperlihatkan perubahan makroskopis yang mirip dengan penelitian ini yaitu: erythema, bengkak, dan hiperalgesia (Ben Khedir *et al.*, 2016; Szekalska *et al.*, 2020). Injeksi karagenin memicu terjadinya inflamasi melalui fase bifasik. Pada fase vaskuler, pro inflamasi sitokin seperti TNF- $\alpha$ , IL-6 dan IL- $\beta$  terlibat pada jam pertama pasca injeksi, sementara bradikinin terlibat pada jam ke- 1,30 sampai dengan jam ke-3 pasca injeksi. Prostaglandin memegang peran penting pada fase seluler (fase ke-2), yang terjadi pada jam ke-3-5 pasca injeksi (Reanmongkol *et al.*, 2009). Mediator-mediator tersebut diatas yang bertanggung jawab terhadap erythema/ kemerahan, edema/ bengkak dan rasa nyeri pada tempat injeksi.

Pemeriksaan mikroskopik memperlihatkan adanya inflamasi dan edema pada jaringan dermal dan panikulus yang semakin berat/ *severe* sesuai dengan peningkatan konsentrasi karagenin. Pemeriksaan histopatologis dilakukan pada sampel kulit pada jam ke-6 pasca injeksi karagenin dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE). Perubahan histopatologis kulit punggung mencit yang diinjeksi dengan karagenin konsentrasi 1%, 2% dan 4% dapat dilihat pada gambar 2(a-b), 3(a-b) dan 4(a-b-c-d).

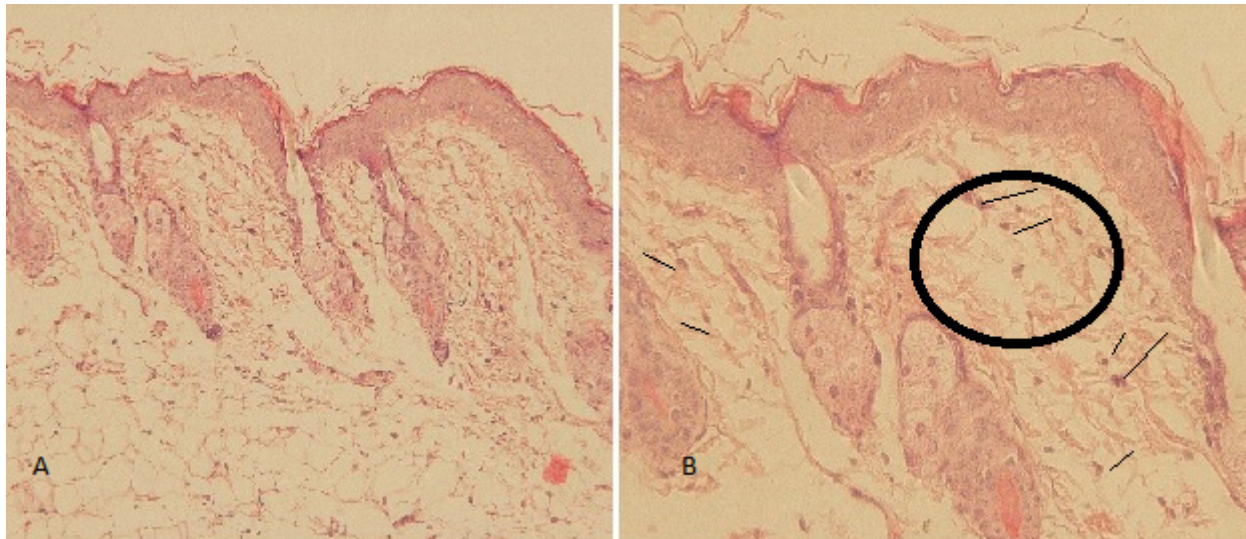
Pengamatan histologis pada jaringan kulit punggung mencit pasca injeksi dengan berbagai konsentrasi dari karagenin (1%-4%), memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi karagenin yang diberikan, semakin parah kerusakan yang terjadi jaringan kulit. Perubahan jaringan yang diamati adalah adanya infiltrasi sel polimorfonuklear pada daerah dermis dan panikulus disertai adanya edema. Injeksi dengan karagenin konsentrasi 1% dan 2% menunjukkan perubahan histopatologis berupa inflamasi *mild* dan *moderate* yaitu infiltrasi sel radang dan edema pada dermis. Gambaran histopatologis inflamasi *severe* pada kulit punggung mencit berupa infiltrasi sel polimorfonuklear pada daerah dermis dan panikulus disertai edema. Perubahan inflamasi *severe* ditemukan pada kelompok yang di injeksi dengan karagenin 4%. Hasil penelitian ini juga memperlihatkan bahwa peningkatan konsentrasi dari karagenin yang di injeksikan berpengaruh terhadap tebal lipatan punggung

mencit ( $p < 0,05$ ), dan derajat perubahan histopatologis kulit punggung mencit, namun tidak berpengaruh untuk memperpanjang waktu respon inflamasi akut.

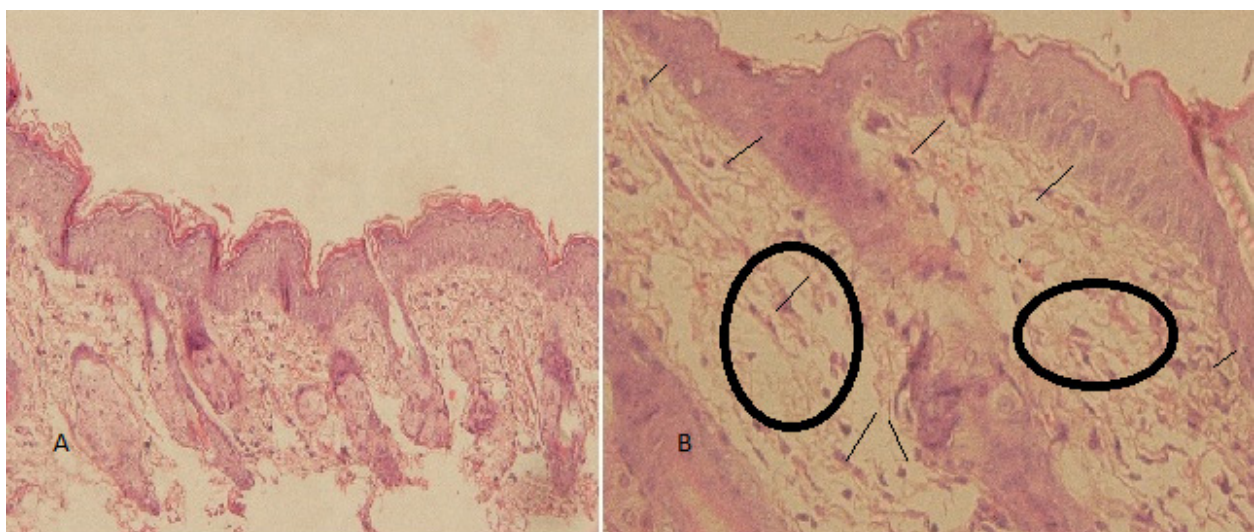
Studi yang dilakukan oleh Szekalska *et al.*, (2020) dan Vysakh *et al.*, (2020) menyebutkan bahwa injeksi karagenin pada telapak mencit memperlihatkan gambaran mikroskopik berupa: edema akut, peningkatan tebal epidermis, vasculitis dan infiltrasi sel radang pada epidermis dan dermis. Pada hasil penelitian ini, injeksi berbagai konsentrasi karagenin pada kulit punggung mencit memperlihatkan perubahan mikroskopis berupa edema, infiltrasi sel radang pada dermis dan panikulus dengan derajat ke-

parahan yang berbeda-beda. Pada penelitian ini tidak ditemukan gambaran mikroskopis berupa hiperemia maupun vasculitis. Hal ini diduga karena pengambilan sampel kulit punggung dilakukan pada jam ke-6 pasca injeksi karagenin dimana efek karagenin pada fase vaskular sudah terlewati sehingga hiperemia dan vasculitis tidak ditemukan pada pemeriksaan mikroskopik, seperti yang telah dilaporkan oleh penelitian sebelumnya (Reanmongkol *et al.*, 2009; Ben Khedir *et al.*, 2016; Szekalska *et al.*, 2020).

Uji dengan menggunakan karagenin telah dipergunakan sebagai model untuk menentukan efek anti inflamasi dari bahan produk alami (Ben Khedir *et al.*, 2016; Szekalska *et al.*, 2020).

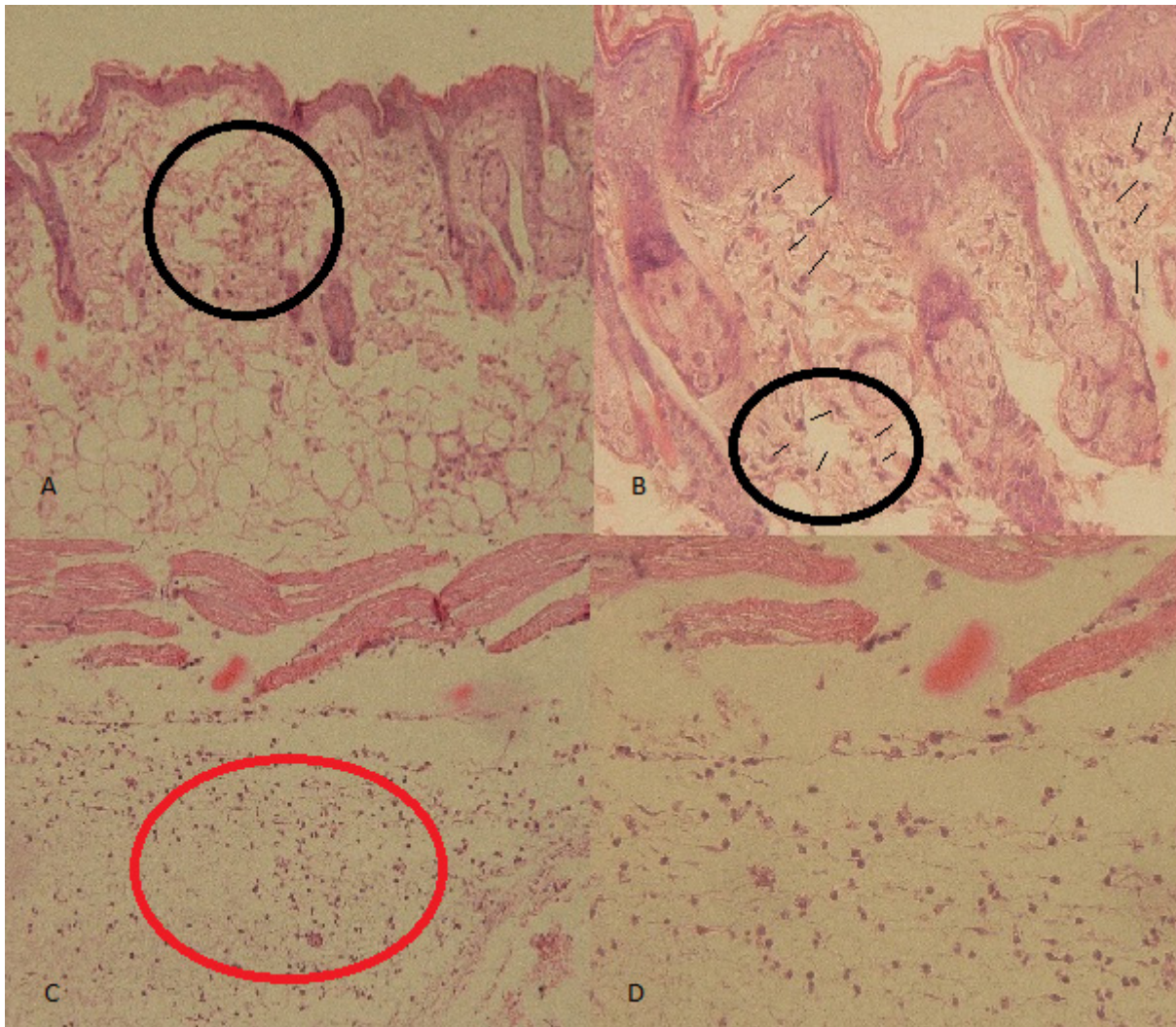


Gambar 2. Rerata tebal lipatan kulit punggung mencit pasca injeksi dengan karagenin 1%, 2% dan 4%. Jam ke-0 adalah tebal lipatan kulit punggung mencit pra-injeksi karagenin. Jumlah hewan per kelompok perlakuan,  $n = 5$ .



Gambar 3. Mikrofotografi kulit punggung mencit pasca injeksi karagenin 1% pada jam ke-6. Terlihat *mild* respon radang yang ditandai dengan infiltrasi sel radang/ garis hitam dan edema pada dermis (jaringan dermal terlihat longgar-lingkar hitam) (pewarnaan HE, A pembesaran 200X dan B pembesaran 400X).





Gambar 4. Mikrofotografi kulit punggung mencit pasca injeksi karagenin 2% pada jam ke-6. Terlihat respon radang yang ditandai dengan infiltrasi sel radang/ garis hitam dan edema pada dermis (jaringan dermal terlihat longgar-lingkaran hitam) (pewarnaan HE, A pembesaran 200X dan B pembesaran 400X).

Penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa karagenin banyak dipakai sebagai model untuk evaluasi inflamasi pada telapak kaki mencit/*mouse paw oedema* (Posadas *et al.*, 2004; Sini *et al.*, 2010). Pada penelitian ini, model inflamasi dengan menyuntikkan karagenin 1%-4% pada kulit punggung mencit dapat memicu respon radang/edema yang ditandai dengan peningkatan tebal lipat kulit (*skin-fold thickness*), yang puncaknya terjadi pada jam ke-1 pasca injeksi karagenin. Model pengukuran respon inflamasi kulit dengan mengukur *skin-fold thickness* telah banyak dipakai sebagai model untuk inflamasi yang disebabkan oleh paparan ultraviolet (Widyarini *et al.*, 2001; Widyarini *et al.*, 2006; Kim, 2016; D’Orazio *et al.*, 2013). Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa injeksi karagenin dengan konsentrasi 1%,2% dan 4%

pada sub kutan kulit punggung mencit dengan pengukuran *skin-fold thickness* dapat dipakai sebagai model untuk evaluasi inflamasi.

### Kesimpulan

Injeksi karagenin sub kutan dengan konsentrasi 1%, 2% dan 4% pada kulit punggung mencit dapat memicu respon inflamasi dengan pembentukan edema yang optimal pada konsentrasi 4% di jam ke-1 pasca injeksi. Gambaran mikroskopis jaringan kulit pada jam ke-6 pasca injeksi karagenin mendukung respon inflamasi secara makroskopik.

### Ucapan Terima Kasih

Peneliti beserta tim mengucapkan terima kasih pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang telah

memberikan bantuan penelitian melalui Hibah Pengembangan Departemen Patologi FKH UGM dengan dana BPPTN-BH FKH UGM dan Nomor kontrak: 1327/UNI/FKH/HK4/2020

### Daftar Pustaka

- Ben-Kheder, S., Mzid, M., Bardaa, S., Moalla, D., Shanoun, Z., and Rebai, T. (2016). In vivo evaluation of the anti-inflammatory effect of Pistacia lentiscus Fruit Oil and Its Effects on Oxidative Stress. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 1:1-12
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., and Ling Zhao, L. (2018). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget.* 9(6): 7204–7218.
- Cohen, S.M., Ito, N., (2002). A critical review of the toxicological effects of carrageenan and processed eucheuma seaweed on the gastrointestinal tract. *Crit. Rev. Toxicol.* 32 (5) 413–444.
- D’Orazio, J., Jarrett, S., Amaro-Ortiz, A. and Scott, T. (2013). UV Radiation and the Skin. *Intl. J. Mol. Sci.* 14(6): 12222–12248
- Fehrenbacher, J.C., Vasko, M.R. and Duarte, J.B. (2012). Models of Inflammation: Carrageenan- or Complete Freund’s Adjuvant-Induced Edema and Hypersensitivity in the Rat. *Curr. Protoc. Pharmacol.* Chapter 5: Unit 5.4: 1-12
- Ferrero-Miliani L, Nielsen, O., Andersen, P. and Girardin, S. (2007). Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 $\beta$  generation. *Clin. Exp. Immunol.* 147:227–235.
- Huang, SdY., Feng, C.W., Hung, H.C., Chakraborty, C. and Chen, C.H. (2014). A Novel Zebrafish Model to Provide Mechanistic Insights into the Inflammatory Events in Carrageenan-Induced Abdominal Edema. *PLoS One.* 9(8): e104414.
- Kim, H.K., (2016). Garlic Supplementation Ameliorates UV-Induced Photoaging in Hairless Mice by Regulating Antioxidative Activity and MMPs Expression. *Molecules.* 21(1): 70-80.
- Kim1 $\dagger$ , K.H., Im2 $\dagger$ , H.W., Karmacharya, M.B., Kim, S., Min, B.H., So Ra Park, A.R. and Choi, B.H. (2020). Low-intensity ultrasound attenuates paw edema formation and decreases vascular permeability induced by carrageenan injection in rats. *J. Inflamm.* 17(7):1-8.
- Kitsukawa, Y., Saito, H., Suzuki, Y., Kasanuki, J., Tamura, Y. and Yoshida, S. (1992). Effect of ingestion of eicosapentaenoic acid ethyl ester on carrageenan induced colitis in guinea pigs. *Gastroenterol.* 102(6):1859–66.
- Maillet, M., Bonfils, S. and Lister, R.E. (1970). Carrageenan: effects in animals. *Lancet.* 2(7669):414–425.
- Marcus, R. and Watt, J. (1981). Danger of carrageenan in foods and slimming recipes, *Lancet.* 1(8215):338.
- Medzhitov, R. (2010). Inflammation: new adventures of an old flame. *Cell.* 140:771–776.
- Nathan, C. and Ding, A. (2010). Nonresolving inflammation. *Cell.* 140:871–882.
- Necas, J. and Bartosikova, L. (2013). Carrageenan: a review. *Vet. Medicina.* 58 (4): 187–205.
- Posadas, I., Bucci, M., Roviezzo, F., Rossi, A., Parente, L., Sautebin, L. and Cirino, G. (2004). Carrageenan-induced mouse paw edema is biphasic, aged-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. *Br. J. Pharmacol.* 142: 331-338
- Poulsen, E. (1973). Short-term peroral toxicity of undegraded carrageenan in pigs. *Food Cosmet. Toxicol.* 11(2):219–27.
- Ravikiran, G., Elumalai, A., Eswarairah, M.C. and Naresh, V. (2012). An Annual Review of Anti-inflammatory Medicinal Plants. *Intl. J. Phytother.* 2(1)23-27.
- Reanmongkol, W., Noppapan, T. and Subhadhirasakul, S. (2009). Antinociceptive, antipyretic, anti-inflammatory activities of *Putranjiva roxburghii* Wal. Leaf extract



- in experimental animals. *J. Nat. Med.* 63(3):290-296.
- Sharratt, M., Grasso, P., Carpanini, F. and Gangolli, S.D. (1970). Carrageenan ulceration as a model for human ulcerative colitis. *Lancet.* 2(7679):932-935.
- Sini, J.M., Yarro, A.H., Ayanwuli, L.O., Aiyelero, O.M., Mallum, S.M. and Gamaniel, K.S. (2010). Antinociceptive and anti-inflammatory activity of the aqueous extract of the root bark of *Combretumsericeum* in rodents. *African J. Biotechnol.* 9: 8872-8876.
- Stankov, S.V. (2012). Definition of Inflammation, Causes of Inflammation and Possible Anti-inflammatory Strategies, *The Open Inflamm. J.* 5(1), 1-9.
- Stein, C., Millan, M.J. and Herz, A. (1988). Unilateral inflammation of the hindpaw in rats as a model of prolonged noxious stimulation: alterations in behavior and nociceptive thresholds. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 31:445-51.
- Suralkar, A.A., Sarda, P.S., Ghaisas, M.M., Thakare, V. and Deshpande, A.D. (2008). In Vivo Animal Models for Evaluation of Antiinflammatory Activity. *Art Rev.* 6(2), 1-9.
- Szekalska M., Sosnowska, K., Tomcrykova, M., Winnicka, K., Kasacka, I. and Tomczyk, M. (2020). In vivo anti-inflammatory and anti-allergic activities of cymaroside evaluated by using hydrogel formulations. *Biomed. Pharmacother.* 121:109681.
- Tobacman, J.K. (2001). Review of harmful gastrointestinal effects of carrageenan in animal experiments, *Environ. Health Perspect.* 109 (10): 983-994.
- Umamageswari, A. and Kudagi, B. (2015). Anti-inflammatory and analgesic properties of *Ocinum sactum*: a comparative study using animal models. *Intl J Basic Clin Pharmacol.* 4(5):981-986.
- Vinegar, R., Truax, J.F. and Selph, J.L. (1976). Quantitative Studies of The Pathway to Acute Carrageenan Inflammation. *Fed. Proc.* 35(13), 2447-2456.
- Vysakh, A., Jayesh, K., Helen, L.R., Jyothis, M. and Latha, M.S., (2020) Acute oral toxicity and anti-inflammatory evaluation of mrthanoloic extract of *Rotua quatica* roots in Wistar rats. *J. Ayurveda. Integr Med.* 11:45-52.
- Vogel, H.G. (2002). *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays.* Second Edition, Springer Vorlag Berlin Heidelberg, pp 726-769.
- Watt, J., Marcus, R. (1981). Harmful effects of carrageenan fed to animals, *Cancer Detect. Prev.* 4 (1-4) 129-134.
- Widyarini S, Spinks N, Husband, A.J. and Reeve, V.E. (2001). Isoflavonoid compounds from red clover (*Trifolium pratense*) protect from inflammation and immune suppression induced by UV radiation. *Photochem. Photobiol.* 74(3):465-70.
- Widyarini, S., Domanski, D., Painter, N. and Reeve, V.E. (2006). Estrogen receptor signaling protects against immune suppression by UV radiation exposure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103(34): 12837-12842.
- Winter, C.A, Risley, E.A. and Nuss, G.W. (1962). Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med.* 111:544-7.
- Wei, W., Feng, W., Xin, G., Niu Tingting, N., Zhanghe, Z., Haimina, C. and Xiaojun, Y. (2016). Enhanced effect of  $\kappa$ -carrageenan on TNBS-induced inflammation in mice. *Intl. Immunopharmacol.* 39: 218-228.
- Wu, W., Wang, F., Gao, X., Niu, T., Zhu, X., Yan, X. and Chen, H. (2016). Synergistic effect of  $\kappa$ -carrageenan on oxazolone-induced inflammation in BALB/c mice. *BMC Gastroenterol.* 16:41
- Wu, W., Zhen, Z., Niu, T., Zhu, X., Gao, Y., Yan, J., Chen, Y., Yan, X., Chen, H. (2017).  $\kappa$ -Carrageenan Enhances Lipopolysaccharide-Induced Interleukin-8 Secretion by Stimulating the Bcl10-NF- $\kappa$ B Pathway in HT-29 Cells and Aggravates *C. freundii*-Induced

- Inflammation in Mice. Mediators Inflamm. <http://dx.doi.org/10.1155/2017/8634865>.
- Zendzian, R.P. (2000). Dermal Absorption of Pesticides in the Rat. Am. Industrial Hygiene Assoc J. 61(4), 437-483.
- Zhou Y, Hong, Y., Huang, H. (2016). Triptolide Attenuates Inflammatory Response in Membranous Glomerulo-Nephritis Rat via Downregulation of NF- $\kappa$ B Signaling Pathway. Kidney Blood Pressure Res. 41:901–910