

Perbandingan Efek Antiinflamasi antara Ekstrak Pare (*M. Charantia*) dengan Kortikosteroid terhadap Dermatitis Eksperimental pada Mencit secara Topikal

Comparison of Antiinflammation Effect beetwen Extract Pare and Kortikosteroid to Dermatitis Experimental in a Mouse Through Topical Applied

Ikhlas M. Jenie, Praseno, Marsetyawan HNE Soesatyo

Abstract

SARS (severe acute respiratory syndrome) represents how confusing the picture of inflammation is. In spite of its ability to protect our body, inflammation could have some disadvantages.

Corticosteroid is one of syptomatically therapy for SARS. Corticosteroids itself has been used for a long time as antiinflammatory drug. But, its adverse reaction such immunocomprised effect has limited its widely use.

It was reported that a and b momorcharin from Pare has antiinflammatory activity. Momorcharin has an ability to prevent antigen-induced limfosit proliferation and reduce the ability of macrofag to fagosit antigen.

The aim of this research is to know how good the antiinflammatory effect of Pare comparing with hidrocortison's is.

The subject of this observation are mice as many as 22, which randomly divided into 4 groups. Each group had been injected with *S. aureus* subcutan. As soon as signs og infection appeared, we treated one group with Pare ointment, one other group with hidrocortison, and 2 groups the rest as positive and negative control.

The inflammation reaction in each group had been recorded, clinically and histologically. The datas were assessed with descriptively and qualitatify analitic.

The result was Pare itself had antiinflammatory effect. Topically, it could make inflammation reaction reduced, uedema diminished, necrose not widened, healing time shorted and fibrosis prevented. But, still, its effect was not as strong as corticosteroid had. Neverthanless, all mice that had been treated with corticosteroid had died because of sepsis or immunocomprised state, that Pare wouldn't had.

Key words: antiinflammation-corticosteroid-pare-immunocomprised

Abstrak

Fenomena SARS (*severe acute respiratory syndrome*) mewakili gambaran hebatnya reaksi inflamasi, yang merupakan respon imun bermata dua. Pada satu sisi merupakan alat pertahanan tubuh, namun pada sisi yang lain dapat merugikan.

Terapi simptomatis SARS salah satunya adalah pemberian metilprednisolon, yang merupakan golongan kortikosteroid. Sebagai antiinflamasi, kortikosteroid sudah digunakan setengah abad lamanya. Penggunaan kortikosteroid sebagai antiinflamasi dibatasi oleh efek samping yang ditimbulkannya, terutama penurunan status imun/*immunokompromised*.

Dilaporkan bahwa biji pare (*M. charantia*) -mengandung zat a dan b momorcharin- mempunyai aktivitas antiinflamasi. *In vitro* momorcharin mampu menghambat proliferasi limfosit terinduksi antigen dan menurunkan fungsi fagosit dari makrofag. *In vivo* pada tikus mampu menghambat migrasi makrofag dan reaksi hipersensitifitas tipe lambat.

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efek antiinflamasi antara ekstrak Pare 10% dengan hidrokortison 1% secara topikal terhadap dermatitis eksperimental pada mencit.

Subyek penelitian adalah mencit berjumlah 22 ekor, dibagi random menjadi empat kelompok: K (6 ekor), C (7 ekor) dan P (7 ekor,) masing-masing mendapat injeksi subkutan *S. aureus* 9×10^{10} ul. Terjadi infeksi lokal dengan angka kegagalan 5%. Mencit kelompok C mendapat terapi ointment Hidrokortison 1%, kelompok P ointment ekstrak biji pare 10%, kelompok K tidak mendapat terapi/kontrol positif dan kelompok S (2 ekor) kontrol negatif.

Pengukuran meliputi derajat peradangan -secara klinis dan histopatologi- serta kesembuhan yang dicapai. Analitisa data bersifat kualitatif deskriptif.

Didapatkan hasil ekstrak biji pare mempunyai efek antiinflamasi. Pemberiannya secara topikal mampu memperlambat reaksi peradangan, mencegah akumulasi sel radang, meminimalisasi edema, mengurangi nekrosis, waktu pemulihan lebih cepat dan menghambat terbentuknya jaringan parut. Tetapi, efek antiinflamasi ekstrak biji pare masih lebih rendah dibandingkan dengan hidrokortison. Meskipun demikian seluruh mencit kelompok C/terapi hidrokortison mati dalam kondisi imunokompromised/sepsis.

Pendahuluan

Inflamasi adalah manifestasi respon imun yang bermata dua. Pada satu sisi respon imun berusaha melenyapkan agen penyebab, pada sisi lain respon imun merusak jaringan tubuh. Seperti yang terjadi pada SARS (*severe acute respiratory syndrome*), ketika gagal nafas tidak diakibatkan secara langsung oleh coronavirus, melainkan oleh respon inflamasi yang berlebihan dari tubuh.

Paparan benda asing, menyebabkan sistem imun bekerja melalui dua jalan: respon non-spesifik dan spesifik. Respon imun non-spesifik bersifat bawaan dan bekerja tanpa memori. Manifestasi berupa: peningkatan aliran darah di tempat peradangan, peningkatan permeabilitas kapiler mengakibatkan ekstrasvasasi cairan, dan migrasi leukosit keluar dari pembuluh darah. Reaksi ini terjadi akibat dilepaskannya mediator-mediator tertentu oleh beberapa sel, misalnya histamin yang dilepaskan oleh basofil dan mastosit, amina vasoaktif yang dilepaskan trombosit, serta anafilatoksin yang berasal dari komponen-komponen komplemen. Selanjutnya terjadi opsonisasi oleh imunoglobulin atau komplemen dan fagositosis benda asing oleh makrofag.¹ Pada radang akut, sel-sel radang adalah netrofil. Pada radang kronik, sel-sel radang adalah monosit dan limfosit.² Respon imun spesifik bekerja dengan memori dengan dominasi peran limfosit: T, B dan *natural killer*. Limfosit T bekerja pada respon imun selular. Limfosit B bekerja pada respon imun humoral dengan menghasilkan antibodi. Kedua limfosit tersebut bekerja dalam interaksi yang dinamis.¹

Salah satu terapi simptomatis SARS adalah pemberian metilprednisolon, yang merupakan golongan kortikosteroid.³ Kortikosteroid sudah digunakan sebagai antiinflamasi setengah abad lamanya.⁴ Penggunaan kortikosteroid sebagai antiinflamasi dibatasi oleh efek samping yang ditimbulkan, antara lain hipertensi, hiperglikemia, osteoporosis, katarak, kelemahan karena kehilangan protein otot dan penurunan status imun/imunokompromised.⁵

Sementara itu, telah dilakukan penelitian terhadap biji pare (*M. charantia*). Dilaporkan bahwa biji pare mengandung zat a dan b momorcharin. *In vitro* momorcharin mampu menghambat proliferasi limfosit terinduksi antigen dan menurunkan fungsi fagosit dari makrofag. *In vivo* pada tikus, suntikan intraperitoneal 4 mg momorcharin/ kg BB mampu menghambat migrasi makrofag dan reaksi hipersensitifitas tipe lambat.⁶ Momorcharin didapat dari fraksinasi biji pare dengan aseton, diikuti purifikasi dengan elektroforesis gel dan reaksi imun.⁶ Momordin dan trichosantin pada Pare dapat menekan pembentukan antibodi terhadap antigen yang tergantung Thymus (*T-dependent antigen*), memperlambat reaksi penolakan cangkok kulit alograf.⁷

Namun kedua bahan antiinflamasi tersebut belum pernah dibandingkan, apakah ekstrak biji pare (*M. charantia*) memiliki efek antiinflamasi yang sebanding dengan kortikosteroid?

Penelitian ini bertujuan mempelajari perbandingan efek antiinflamasi antara ekstrak biji pare (*M. charantia*) dengan kortikosteroid secara topikal pada dermatitis eksperimental pada mencit.

Bahan dan Cara Penelitian

Subjek penelitian adalah mencit berjumlah 24 ekor dengan usia dua bulan, berat badan 40-60 gram. Mencit tersebut diperlakukan dengan baik dan sesuai etika penelitian, dengan pemberian diet 5-21 dan air minum bersih terkontrol.

Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Sebanyak 24 ekor mencit secara random dibagi enam-enam dalam empat kelompok perlakuan: K, C, P dan S. Mencit pada kelompok K, C dan P mendapat suntikan bakteri *S. aureus* 9×10^{10} cfu subkutan untuk menginduksi dermatitis.¹ Kelompok C mendapat terapi ointment Hidrokortison 1% secara topikal 2 kali sehari hingga sembuh. Kelompok P mendapat terapi ointment ekstrak biji pare 10% dengan frekuensi yang sama, 2 kali sehari, hingga sembuh. Sedangkan kelompok K, sebagai kontrol positif, tidak diberi terapi. Kelompok S adalah kelompok mencit yang sehat sebagai kontrol negatif, sehingga tidak mendapat suntikan *S. aureus* ataupun terapi.

Pembuatan ekstrak biji pare dilakukan di Pusat Pengolahan Obat Tradisional (PPAT) UGM. Ekstrak tersebut didapatkan dengan berat 53,5 g lalu dibuat dalam konsentrasi 50% v/v terlarut air.

Pembuatan ointment dilakukan di Bagian Farmasi FK UGM. Dengan bahan pembawa vaselin, sehingga didapatkan ointment ekstrak biji pare 10% dan ointment Hidrokortison 1%, kurang lebih 30 g.

Pengamatan kondisi luka secara klinik dilakukan setiap hari hingga sembuh. Sedangkan pengambilan jaringan kulit untuk mendapatkan gambaran histopatologi dilakukan di antara hari ketujuh hingga hari kesepuluh setelah suntikan kuman.

Pengukuran hasil perlakuan bersifat kualitatif, terdiri dari pengukuran klinik dan gambaran histopatologi.

Pengukuran klinik meliputi penilaian derajat luka, kualitas dan waktu untuk mencapai kesembuhan. Pengukuran melalui gambaran histopatologi meliputi kepadatan, penyebaran dan macam sel-sel radang, bagian yang terkena serta derajat edema dan nekrosis. Kemudian hasil masing-masing kelompok dibandingkan.

Hasil

Pada pengamatan klinik didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 1. Perbandingan Derajat Luka antar Kelompok pada Hari 4 Pasca Suntikan *S. aureus*

Kondisi	Kelompok K	Kelompok C	Kelompok P
perlekatan	0 (0%)	2 (28%)	1 (16,6%)
peradangan	6 (100%)	5 (72%)	5 (83,4%)
Total	6 (100%)	7 (100%)	6 (100%)

Pada kelompok terapi ointment ekstrak biji pare 10% terlihat masih adanya seekor mencit (16,6%) mengalami perlambatan peradangan. Hasil ini lebih kecil dibandingkan dengan kelompok terapi ointment Hidrokortison 1%, yang mencapai dua ekor mencit (28%).

Tabel 2. Perbandingan Hari Kesembuhan antara Kelompok Terapi Ointment Ekstrak Biji Pare 10% dengan Kelompok tanpa Terapi Antiinflamasi

Kelompok	Hari krusta lepas				Rerata
	kontrol	15	19	23	
Pare	17	26	30	40	28,25
Kelompok	Hari kesembuhan				Rerata
	kontrol	31	35	38	
Pare	29	34	38	60	40,25
Kelompok	Hari pemulihan				Rerata
	kontrol	16	15	15	
Pare	12	08	08	20	12

Pencapaian hari kesembuhan mencit kelompok terapi ointment Hidrokortison 1% tidak dapat diperbandingkan karena seluruh mencit kelompok tersebut mati sebelum mencapai kesembuhan.

Waktu pemulihan pada mencit kelompok terapi ointment ekstrak biji pare 10% rata-rata mencapai 12 hari, lebih kecil dibandingkan dengan mencit kelompok tanpa terapi antiinflamasi (kontrol positif) yang rata-rata mencapai 16,5 hari.

Pada pengamatan histopatologi didapatkan hasil berikut:

Tabel 3. Perbandingan Derajat Histopatologi antar Kelompok pada Hari 9 Pasca Suntikan *S. aureus*

Sediaan	Kelompok K	Kelompok C	Kelompok P
Sel Radang	+3	+1	+1 - +2
Udema	+3	0	+1 - +2
Nekrosis	+2	+2	+1

Kepadatan sel radang pada mencit kelompok terapi ointment ekstrak biji pare 10% mencapai derajat +1 hingga +2, lebih buruk dibandingkan dengan mencit kelompok terapi ointment Hidrokortison 1% (derajat +1).

Diskusi

Pada penelitian ini 20 ekor mencit mendapat suntikan 9×10^{10} cfu *S. aureus* subkutan. Pasca suntikan, ada tiga kemungkinan yang akan terjadi: timbul peradangan, hipersensitifitas lambat atau tidak timbul keduanya.⁹

Didapatkan tidak satupun mencit (0%) dengan tanda-tanda reaksi hipersensitifitas tipe lambat yaitu eritema dan indurasi¹⁰, pasca suntikan *S. aureus*.

Didapatkan satu ekor mencit (5%) tanpa tanda-tanda peradangan lokal/ tempat suntikan (tumor, rubor, calor dan dolor) dan atau sistemik. Hal tersebut menunjukkan tidak terjadi respon imun pada mencit tersebut.⁹

Didapatkan sembilan belas ekor mencit (95%) dengan peradangan. Hal ini menunjukkan munculnya respon imun pada mencit tersebut⁹. Reaksi radang yang terjadi muncul dalam hitungan jam setelah masuknya agen penyebab, menunjukkan terjadi radang akut. Sulit untuk dibedakan apakah terjadi respon imun primer atau sekunder. Hasil pengamatan klinik ini diperkuat gambaran histopatologi kulit mencit kelompok kontrol hari kesembilan pasca suntikan kuman. Gambaran histopatologi yang didapat adalah udema, nekrosis dan infiltrasi sel radang yang didominasi netrofil: menunjukkan gambaran radang yang bersifat akut.²

Gambaran histopatologi kulit mencit seluruh kelompok perlakuan menunjukkan koloni *S. aureus* yang terletak di luar sel. Hasil ini sesuai dengan sifat bakteri *S. aureus* yang merupakan bakteri ekstraselular.¹¹ Respon imun yang berperan melawan infeksi bakteri ekstraselular adalah respon imun humoral, melalui antibodi/ imunoglobulin, melalui tiga cara kerja antibodi menetralkan toksin bakteri dan mencegah pengikatannya pada sel target, antibodi sendiri akan melakukan opsonisasi bakteri untuk difagositosis makrofag, atau antibodi terlebih dahulu mengaktifkan

sistem komplemen, kemudian komplemen melakukan opsonisasi bakteri untuk difagositosis makrofag.⁹ Makrofag pada fase akut adalah netrofil dengan granula yang mengandung hidrolase, mieloperoksidase dan protein kation yang memiliki aktifitas antibakteri.¹² Pada perbesaran kuat tampak daerah nekrosis yang mengelilingi koloni kuman. Nekrosis tersebut disebabkan eksotoksin bakteri yang menyebabkan nekrosis kulit, serta respon imun yang melawannya.¹¹

Terjadinya perlambatan peradangan pada dua ekor mencit (28%) pada kelompok C menunjukkan efek Hidrokortison 1% sebagai antiinflamasi. Efek antiinflamasi Hidrokortison dicapai pertama, melalui penghambatan enzim fosfolipase A2 sehingga mengurangi pelepasan asam arakhidonat dari fosfolipid. Hal ini mengurangi mediator-mediator inflamasi seperti prostaglandin, leukotrien dan tromboksan. Kedua, seperti yang ditunjukkan pada sediaan histopatologi, yakni mencegah adhesi dan ekstravasasi netrofil dari kapiler ke tempat infeksi, sehingga mengurangi degranulasi. Berkurangnya jumlah netrofil pada tempat infeksi ini juga akan memperlemah daya fagositosis netrofil tersebut terhadap bakteri pada fase akut.

Didapatkan tidak ada udema pada kelompok terapi ointment Hidrokortison 1%, menunjukkan efek antiinflamasi Hidrokortison dengan menurunkan permeabilitas pembuluh darah, sehingga mengurangi ekstravasasi plasma dan protein.¹³ Menurunnya permeabilitas pembuluh darah akan semakin memperlemah fagositosis bakteri karena mengurangi kuantitas faktor serum untuk opsonisasi.¹² Dilaporkan kortikosteroid menghambat komplemen.¹⁴ Sedangkan nekrosis yang masih ada menunjukkan efek eksotoksin *S. aureus*.¹¹

Didapatkan perlambatan peradangan pada satu ekor mencit (16,6%) kelompok P pada hari keempat pasca suntikan kuman, menunjukkan ekstrak biji pare 10% memiliki kemampuan antiinflamasi. Namun hasil ini lebih rendah dibandingkan dengan kelompok C/ terapi hidrokortison 1% (28%).

Didapatkan gambaran infiltrasi sel radang yang didominasi netrofil pada sediaan histopatologi mencit kelompok P (+1 - +2) lebih rendah dibandingkan dengan mencit kelompok kontrol (+3), menunjukkan kemampuan antiinflamasi ekstrak biji pare 10% mencegah akumulasi sel radang pada area inflamasi. Namun hasil ini lebih buruk dibandingkan dengan mencit kelompok C/ terapi ointment Hidrokortison 1% (+1, menunjukkan kemampuan antiinflamasi ekstrak biji pare 10% masih lebih lemah dibandingkan dengan Hidrokortison 1%. Beberapa hipotesis mengenai hal ini adalah: pertama, ekstrak biji pare 10% tidak bekerja secara langsung menghambat enzim fosfolipase seperti kortikosteroid. Kedua, kemampuan penetrasi luka ekstrak biji pare 10% kurang baik dibandingkan dengan Hidrokortison 1%.

Sediaan histopatologi kulit mencit kelompok terapi ekstrak biji pare 10% menunjukkan udema yang minimal, lebih sedikit daripada kelompok kontrol, menunjukkan kemampuan menurunkan permeabilitas pembuluh darah ekstrak biji pare 10%. Namun hasil tersebut tidak sekuat Hidrokortison 1%.

Didapatkan nekrosis yang minimal (+1) pada sediaan histopatologi mencit kelompok P, jauh lebih sedikit daripada kelompok kontrol (+3), menunjukkan kemampuan ekstrak biji pare 10% mengurangi jumlah netrofil pada tempat infeksi. Namun hasil ini lebih rendah dibandingkan dengan kelompok terapi hidrokortison 1% (+2).

Pada mencit kelompok K/kontrol tanpa terapi, proses radang berlangsung lebih dari dua minggu, menunjukkan radang akut telah berlanjut menjadi radang kronis. Pada radang kronis terjadi destruksi jaringan diikuti oleh pembentukan jaringan granulasi yang kaya akan kapiler baru dan fibrosit.² Pada mencit kelompok K timbul jaringan pemulihan tanpa ditumbuhi bulu (hilangnya folikel rambut) menunjukkan pemulihan luka secara sekunder.

Seluruh mencit kelompok C/terapi ointment Hidrokortison 1% mati (100%). Kondisi luka buruk, timbul erosi lebih dini dan perubahan warna terjadi lebih cepat. Pada sakrifasi didapatkan supurasi jauh ke dalam: pada otot punggung, liver dan usus. Inokulasi pada tabung maltosa menunjukkan *S. aureus*. Data tersebut tidak mengesampingkan sebab kematian karena infeksi akibat kondisi imunokompromis.¹⁷

Sediaan histopatologi kulit mencit kelompok C yang mati menunjukkan sel radang didominasi sel mononuklear, menunjukkan proses radang kronis.²

Didapatkan waktu pemulihan/organisasi mencit kelompok terapi P (*mean* 12 hari) lebih cepat dibandingkan dengan mencit kelompok K (*mean* 20 hari), menunjukkan derajat radang kelompok terapi ekstrak biji pare 10% lebih ringan. Makin ringan suatu jejas akan semakin cepat pula waktu pemulihan yang diperlukan.²

Didapatkan jaringan parut sebagai akhir proses peradangan pada mencit kelompok P, menunjukkan ekstrak biji pare 10% tidak menghambat pertumbuhan jaringan pemulihan ataupun mempercepat degradasinya. Hal ini berbeda dengan kortikosteroid yang menghambat pertumbuhan fibroblas dan sintesis kolagen.²

Daftar Pustaka

1. Kresno, Siti Boedina, 1996, Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium, 3-9, FK-UI, Jakarta
2. Robbins, R. dan Kumar, 1992, Buku Ajar Patologi, 55-56, EGC, Jakarta
3. Soetaryo, 2003, SARS, Kedaulatan Rakyat
4. Soesatyo, Marsetyawan HNE and Mary Palmen, 1995, The Effects of Budesonide on Lymphoid and non-Lymphoid Cell Profiles and Ia-antigen Expression in Rats with Experimental Colitis BIKed, 27, 1:13-9
5. Neal, MJ, 1993, Medical Pharmacology at a Glance, 89-90, Blackwell Scientific Publications Oxford, London
6. Leung SO, Yeung HW, Leung KN, 1987, The Immunosuppressive Activities of Two Abortifacient Proteins Isolated from the Seeds of Bitter Melon (*Momordica ch.*), Immunopharmacology 13: 159-71

7. Barbieri, 1992, RIFs in Cucurbitaceae, Gene, 139
8. Praseno, S. Suparwoto, Rintiswati, N. 1997, Antiviral Activity of Momordica charantia: A Preliminary Study on in vitro Antih herpes Simpleks Virus, BIKed, 29, 3:121-3
9. Soebowo, 1993, Immunobiologi, Dunia Angkasa, Bandung
10. Cuttman, R.D. 1985, Immunology, 62-70, Scope Publicatins, New York
11. Jawetz, E. Adelberg, E.A. Melnick, J. Brooks, G.F. 1989, Medical Microbiology, 16th ed, 225-7, Lange Medical Publications, Los Altos
12. Mandell, G.L. 1977, Neutrophils and Infection, in: Hook, E. and Mandell, G.L. Current Concepts of Infectious Disease, 71-84, Willey Medical Publication, New York
13. Sutarman, NP dan Roma, Julius, 1993, Pengaruh Kortikosteroid terhadap Sistem Imun, Cermin Dunia Kedokteran, 85: 43-6
14. Douglas, P.F. 1981, Complement and Infectious Disease, 55-60, CRC Press