

## Khasiat antiinflamasi eko-enzim berbasis kulit buah jeruk (*Citrus sp.*) terhadap mencit yang di induksi karagenan

### Anti-inflammatory efficacy of orange fruit (*Citrus sp.*) peels eco-enzyme in mice induced by carrageenan

ELNI FATIMAH, ASYIFA UL HUSNA, RAFIA, PUTRA SANTOSO\*

Departemen Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas. Limau Manis Pauh, Kota Padang, Sumatera Barat 25162, Indonesia  
\*email: putrasantoso@sci.unand.ac.id

Manuskrip diterima: 15 Agustus 2022. Revisi disetujui: 20 Oktober 2022.

**Abstrak.** *Fatimah E, Husna AU, Rafia, Santoso P. 2022. Khasiat antiinflamasi eko-enzim berbasis kulit buah jeruk (*Citrus sp.*) terhadap mencit yang di induksi karagenan. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 8: 119-126.* Inflamasi merupakan respon proteksi tubuh terhadap suatu kerusakan jaringan maupun infeksi patogen. Penggunaan obat antiinflamasi komersil dari golongan steroid dan nonsteroid dalam jangka panjang terbukti dapat menimbulkan banyak efek samping. Untuk itu, perlu dikembangkan obat antiinflamasi berbasis bahan alami yang efektif, aman, dan terjangkau. Eko-enzim berbasis sampah organik telah banyak dimanfaatkan sebagai cairan pembersih, pestisida nabati, pupuk organik dan filter udara. Namun, informasi ilmiah berkenaan dengan potensinya sebagai material obat masih sangat terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap khasiat eko-enzim berbasis sampah kulit buah jeruk (*Citrus sp.*) sebagai antiinflamasi melalui analisis senyawa bioaktif dalam eko-enzim, pengujian ekperimental daya inhibisinya terhadap inflamasi dan respon hematologis pada hewan model mencit putih jantan galur Balb/c. Mencit dibagi menjadi empat kelompok perlakuan berbeda yaitu A (mencit tanpa induksi inflamasi), B (diinduksi inflamasi dengan karagenan 1% secara subkutan pada bagian dorsal), C (diinduksi dengan karagenan + obat antiinflamasi komersil Betametason valerate 0,1%), dan D (diinduksi dengan karagenan + eko-enzim kulit jeruk 200 µl sekali sehari secara topikal). Hasil analisis komatografi gas menunjukkan eko-enzim dari sampah kulit jeruk mengandung zat yang berperan sebagai agen antiinflamasi berupa Hexadecanoic acid, Acetaldehyde ethyl cis-3hexenyl acetal dan 2-Hydroxy-1,1,10-trimethyl-6,9-epidioxydecalin. Selanjutnya, pemberian eko-enzim sampah kulit jeruk 200 µl secara topikal efektif menurunkan ketebalan lipatan punggung mencit yang diinduksi dengan karagenan dengan daya antiinflamasi rata-rata mencapai 33%. Analisis hematologi menunjukkan bahwa pemberian eko-enzim mampu menekan kuantitas leukosit total, limfosit, monosit, dan granulosit setelah 6 jam pasca induksi inflamasi dengan karagenan. Temuan ini mengindikasikan bahwa eko-enzim berbasis sampah kulit jeruk sangat berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat antiinflamasi yang efektif, terjangkau dan ramah lingkungan.

**Kata kunci:** Acetaldehyde ethyl cis-3hexenyl acetal, betamethasone valerate, inflamasi, respon hematologis

**Abstract.** *Fatimah E, Husna AU, Rafia, Santoso P. 2022. Anti-inflammatory efficacy of orange fruit (*Citrus sp.*) peels eco-enzyme in mice induced by carrageenan. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 8: 119-126.* Inflammation is the protective response of the body against tissue damage or pathogen infection. The use of commercial anti-inflammatories from the steroid and non-steroidal groups in the long term has been shown to cause many side effects. For this reason, it is necessary to develop anti-inflammatories based on natural ingredients that are effective, safe, and affordable. Eco-enzymes based on organic waste has been widely used as cleaning fluids, vegetable pesticides, organic fertilizers and air filters. However, scientific information regarding its potential as a medicinal material is still very limited. This study aims to reveal the efficacy of eco-enzymes based on citrus peel waste (*Citrus sp.*) as anti-inflammatory through analysis of bioactive compounds in eco-enzymes, experimental testing of their inhibitory on inflammation and hematological responses in male Balb/c mice models. Mice were divided into four different treatment groups, namely A (mice without inflammation induction), B (induced inflammation with 1% carrageenan subcutaneously on the dorsal), C (induced with carrageenan + Betamethasone valerate 0.1%), and D (induced with carrageenan + orange peel eco-enzyme 200 µl once daily topically). The results of gas chromatography analysis showed that eco-enzymes from orange peel waste contained substances that act as anti-inflammatory agents like Hexadecanoic acid, Acetaldehyde ethyl cis-3hexenyl acetal and 2-Hydroxy-1,1,10-trimethyl-6,9-epidioxydecalin. Furthermore, topical administration of 200 µl of orange peel waste eco-enzyme was effective in reducing the back fold thickness of mice induced with carrageenan with an average anti-inflammatory effect of 33%. Hematological analysis showed that the administration of eco-enzymes was able to suppress the number of total leukocytes, lymphocytes, monocytes, and granulocytes 6 hours after inflammation with carrageenan. These findings indicate that eco-enzymes based on orange peel waste have the potential to be developed into effective, affordable and environmentally friendly anti-inflammatory drugs.

**Keywords:** Acetaldehyde ethyl cis-3hexenyl acetal, betamethasone valerate, inflammation, hematological response

## PENDAHULUAN

Peradangan atau inflamasi merupakan suatu respon proteksi pada daerah luka akibat kerusakan jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia yang bersifat merusak, atau agen mikroba (Harianto et al. 2021). Inflamasi bertujuan untuk mengurangi, menghancurkan, hingga mengalokasikan agen yang merusak maupun jaringan yang rusak (Agustina et al. 2015). Untuk mengurangi efek inflamasi, biasanya digunakan obat komersil dari golongan steroid dan non steroid. Namun, kedua jenis obat ini memiliki efek samping yang buruk bagi tubuh jika digunakan dalam jangka panjang. Obat dari golongan steroid dapat menurunkan respon imun tubuh terhadap infeksi, menurunkan sintesis glukokortikoid, hipertensi, osteoporosis dan *moonface*. Sedangkan, obat antiinflamasi dari golongan non steroid (AINS) dapat menyebabkan gangguan saluran pencernaan, mengganggu fungsi trombosit dan menghambat induksi kehamilan (Sukmawati et al. 2015).

Efek samping yang tinggi dari penggunaan obat sintetis, membuat perlu mencari upaya lain untuk antiinflamasi dari bahan-bahan organik yang masih bersifat alami, seperti tumbuh-tumbuhan (Nifinluri et al. 2019). Sampai saat ini sudah banyak ekstrak dari tumbuhan yang digunakan sebagai obat antiinflamasi. Namun, ekstraksi dari enzim, asam organik, dan senyawa fenolik melalui metode konvensional seperti maserasi atau refluks membutuhkan pelarut mahal dan melibatkan panas untuk mendegradasi senyawa yang menyebabkan sulit untuk mendapatkan ekstrak dengan kemurnian tinggi, sehingga ekstraksi melalui proses fermentasi lebih disukai. Salah satu dari proses ekstraksi yang melalui proses fermentasi dikenal dengan istilah eko-enzim (Mavani et al. 2020).

Eko-enzim merupakan produk berupa cairan dari hasil olahan limbah organik sayur dan buah-buahan segar yang difermentasi dengan menggunakan gula merah (Rochyani et al. 2020). Eko-enzim bermanfaat dalam bidang pertanian (sebagai pupuk organik cair, pestisida nabati), untuk kesehatan (sebagai desinfektan, cairan pembersih), dan untuk rumah tangga (sebagai pengganti sabun mandi, pembersih lantai, dan obat kumur) (Hasanah 2021). Selain diproduksi untuk lingkungan dan pembersih, akhir-akhir ini eko-enzim mulai digunakan sebagai obat luar pengganti salep sintetis untuk gatal-gatal, merah karena gigitan serangga atau memar ringan.

Eko-enzim mengandung senyawa yang bermanfaat sebagai obat untuk antibakteri, antimikroba dan antiinflamasi. Beberapa penelitian telah melaporkan terkait manfaat eko-enzim sebagai entitas bakteri dan antiinflamasi. Salah satunya yang berpotensi sebagai antiinflamasi adalah eko-enzim dari kulit jeruk (*Citrus* sp.). Dalam penelitian Imelda et al. (2021) disebutkan bahwa eko-enzim dari kulit jeruk (*Citrus aurantium* L.) terbukti memiliki efek antimikroba serta sifat anti-inflamasi

Karena telah banyak yang memanfaatkan sebagai obat gatal-gatal dan adanya penelitian sebelumnya yang telah membuktikan bahwa eko-enzim memiliki efek antiinflamasi, maka penelitian kali ini bertujuan untuk mengetahui potensi aktivitas eko-enzim dari sampah kulit jeruk (*Citrus*

sp.) yang di fermentasi sebagai antiinflamasi pada mencit putih jantan galur BALB/c yang terinduksi karagenan.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan tempat

Penelitian bersifat empirik yang dilakukan selama tiga bulan dari Juni 2022 sampai Agustus 2022 di Laboratorium Riset Fisiologi Hewan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas.

### Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini pisau, wadah tertutup, timbangan analitik, botol steril, kandang mencit, gelas ukur, *hematology analyzer* (Exigo BM800), mikropipet, sarung tangan, masker, pinset, serbuk gergaji, tabung EDTA, kertas saring, mikrotom, botol film, kaca objek, gelas objek, mikroskop cahaya, kamera, tip 200  $\mu$ l, Spektrofotometer, spuit steril (1cc), pisau cukur, kandang mencit, gunting, jangka sorong, termometer, stopwatch, pisau cukur, dan alat pemeriksaan GC-MS (Shimadzu; GCMS QP2010 PLUS). Bahan yang digunakan pada penelitian ini sampah sisa kulit buah jeruk, gula merah, ragi Permifan, air demineralisasi, mencit (*Mus musculus*) BALB/c dengan berat badan berkisar 20-2,5 gram dan umur 2-3 bulan, pakan mencit Rat-Bio, cream *veet*, etanol 70%, karagenan, larutan NaCl 0,9%, Aquades, EDTA cair, dan Betametasone valerate 0,1%.

### Desain penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 macam perlakuan dan 5 kali pengulangan. Macam perlakuannya disajikan pada Tabel 1.

### Prosedur kerja

#### *Pembuatan eko-enzim sampah kulit jeruk*

Prosedur pembuatan eko-enzim merujuk pada penelitian Rahayu et al. (2021). Sampel kulit buah jeruk dikoleksi di Limau Manis, Pauh, Kota Padang. Kemudian sampel dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran. Lalu, dipotong kecil-kecil dan ditimbang sebanyak 150 gram. Setelah itu, disiapkan pula gula merah sebanyak 50 gram, permifan 5 gram dan air 500 ml. Semua bahan tersebut dimasukkan ke wadah fermentasi lalu dilakukan proses fermentasi selama 8 sampai 10 hari dengan disimpan pada tempat yang kering pada suhu ruangan. Selanjutnya disaring sampel eko-enzim yang diperoleh menggunakan saringan dan disimpan dalam botol steril gelap pada suhu ruangan.

**Tabel 1.** Kelompok perlakuan

Kelompok	Perlakuan
Perlakuan 1	Tanpa perlakuan (kontrol)
Perlakuan 2	Injeksi Karagenan 1%
Perlakuan 3	Injeksi Karagenan 1% + Betametasone 0,1%
Perlakuan 4	Injeksi Karagenan 1% + EE Jeruk 200 $\mu$ l

### Penyediaan hewan uji

Hewan uji berupa mencit putih jantan strain BALB/c (berat badan 20-2,5 gram, umur 2-2,5 bulan) diperoleh dari Pusat Tikus Lubuk Begalung, Padang, Sumatera Barat. Hewan di aklimatisasi selama 1 minggu di ruang pemeliharaan hewan sebelum digunakan untuk eksperimen. Mencit diberi pakan Rat-Bio (Citra ina feedmill) dan minum air kran secara *ad libitum*.

### Pengkondisian inflamasi pada mencit

Sebelum pengkondisian inflamasi mencit dicukur rambutnya dibagian dorsal (punggung), lalu dipuaskan selama 11 jam dengan tetap diberi minum. Pengkondisian inflamasi pada mencit menggunakan karagenan 1% yang diinjeksikan pada bagian punggung (dorsal) secara subkutan. Suhu dan ketebalan punggung mencit diukur diawal perlakuan.

### Pemberian eko-enzim pada mencit

Eko-enzim diberikan 1 jam setelah induksi inflamasi sebanyak 200 µl kepada mencit di bagian dorsal menggunakan micropipet, lalu diratakan. Metode ini mengacu pada penelitian Arief et al. (2018).

### Parameter pengamatan

#### Uji kandungan eko-enzim dengan GC-MS

Sampel ekstrak Eko-enzim diidentifikasi dengan menggunakan Agilent GC-MS 19091S-433, mengacu pada penelitian Harianto et al. (2021).

#### Perhitungan ketebalan udem, nilai AUC dan persentase daya antiinflamasi

Pengukuran ketebalan udem, nilai AUC dan persentase penghambatan inflamasi mengacu pada penelitian Kurniasih (2014). Tebal lipatan kulit punggung mencit dihitung menggunakan rumus berikut:

$$Lp = L_t - L_0$$

Keterangan:

$L_p$  : Tebal lipatan kulit punggung mencit pada waktu t (mm)

$L_t$  : Tebal lipatan kulit punggung mencit setelah diinduksi karagenan pada waktu t (mm)

$L_0$  : Tebal lipatan kulit punggung mencit sebelum diinduksi karagenan (mm)

Perhitungan nilai AUC menggunakan rumus:

$$AUC_{0-14} = \sum_0^6 \left[ \frac{(Lp_{n-1} + Lp_n)(x_n - x_{n-1})}{2} \right]$$

Keterangan:

$AUC_{0-6}$  : nilai area di bawah kurva dari jam ke-0 sampai jam ke-6 (mm.Jam)

$Lp_{n-1}$  : tebal lipatan kulit punggung mencit jam ke-(n-1) (mm)

$Lp_n$  : tebal lipatan kulit punggung mencit pada jam ke-n (mm)

$x_n$  : hari ke-n

$x_{n-1}$  : hari ke-(n-1)

Persentase daya antiinflamasi dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Daya Antiinflamasi (\%)} = \frac{(AUC_{0-6})_k - (AUC_{0-6})_p}{(AUC_{0-6})_k} \times 100\%$$

Keterangan:

$(AUC_{0-6})_k$  :  $AUC_{0-6}$  rata-rata perlakuan induksi karagenan (mm.jam)

$(AUC_{0-6})_p$  :  $6$  rata-rata kelompok perlakuan (mm.jam)

### Pengukuran nilai darah

Pemeriksaan hematologi darah dilakukan menggunakan mesin otomatis *hematology analyzer* untuk mengkuantifikasi nilai darah lengkap. Sampel darah utuh (*whole blood*) dikoleksi sebanyak 500 µl setelah 6 jam pasca perlakuan, lalu diaplikasikan ke dalam kolom *analyzer* dan selanjutnya ditentukan nilai darahnya melalui hasil pembacaan pada monitor (Pujiastuti et al. 2017).

### Analisis data

Data-data kuantitatif dianalisis secara statistik dengan analisis varian (ANOVA) satu arah dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil analisis yang memiliki perbedaan signifikan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DNMRT;  $P < 0,05$ ).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil analisis GC-MS kandungan fitokimia eko-enzim sampah kulit jeruk

Berdasarkan hasil analisis kandungan senyawa fitokimia larutan eko-enzim sampah kulit jeruk (*Citrus Sp.*) dengan metode GC-MS (Tabel 2) didapatkan beberapa senyawa yang berpotensi sebagai antiinflamasi.

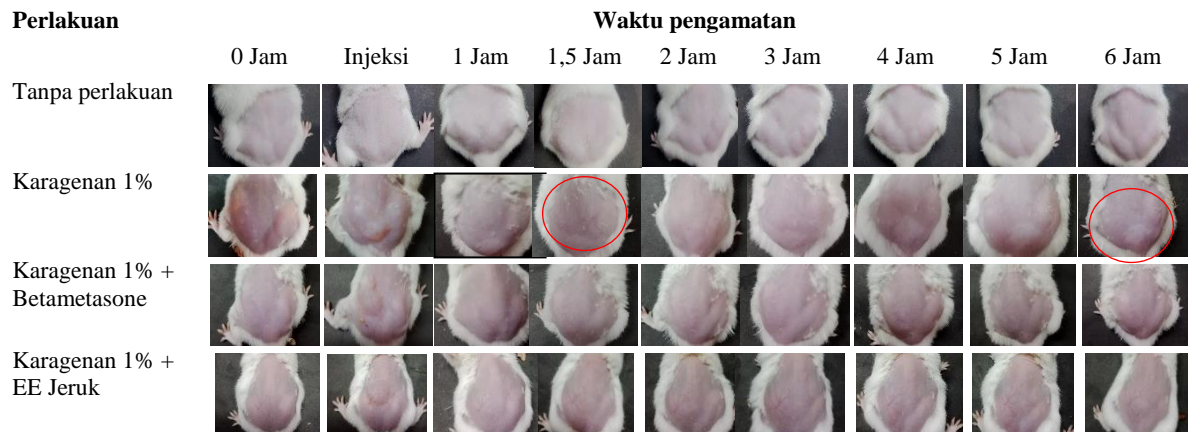
Hasil analisis GC-MS menunjukkan bahwa Eko-enzim dari sampah kulit jeruk mengandung 5 senyawa utama yang berperan sebagai antiinflamasi dengan peran secara umum yaitu dalam inhibitor prostaglandin. Senyawa-senyawa tersebut yaitu Aloxiprin, Hydroperoxide, 1-methylpentyl, Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid, 2-Hydroxy-1,1,10-trimethyl-6,9-epidioxydecali dan Acetaldehyde cis-3-hexenyl pentyl acetal. Senyawa metabolit dengan peran kuat sebagai antiinflamasi adalah hexadecanoic acid dari golongan asam lemak dengan peran sebagai inhibitor prostaglandin (Way2Drugs, 2022). Asam lemak berfungsi dalam pencegahan terhadap infeksi virus, bakteri dan jamur serta sebagai antioksidan yang menangkal radikal bebas pada tubuh (Bustanussalam 2016).

### Efektifitas antiinflamasi eko-enzim kulit buah jeruk

Pada penelitian ini dilakukan observasi terhadap kulit punggung mencit yang diinduksi inflamasi. Hasil pengamatan secara visual disajikan pada Gambar 1, dan hasil pengukuran ketebalan kulit disajikan pada Gambar 2.

**Tabel 2.** Delapan senyawa fitokimia yang diidentifikasi berhubungan dengan inflamasi pada eko-enzim sampah kulit jeruk (*Citrus Sp.*) dan bioaktivitasnya

Peak	R.Time	% Area	Nama IUPAC	Bioaktivitas
1.	1,584	27,04	Dimethylamine (C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N)	Iritasi kulit (Pubchem, 2022)
2.	1,945	10,92	Acetoin (C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> N)	Leukopoiesis stimulant
3.	3,165	0,57	Aloxiprin (C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> Al <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )	Antiinflamasi (Inxigh drugs, 2022); Antiseptik, antipiretik, Inhibitor prostaglandin (Way2Drugs, 2022)
4.	6,885	0,04	Hydroperoxide, 1-methylpentyl (C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub> )	Inhibitor prostaglandin (Way2Drugs, 2022)
5.	16,930	0,05	7-Hexadecenal, (Z)- (C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O)	Antiinfeksi (Way2Drugs, 2022)
6.	19,595	0,02	Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid (C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> )	Inhibitor prostaglandin (Pubchem, 2022)
7.	20,035	0,32	2-Hydroxy-1,1,10-trimethyl-6,9-epidioxydecalin (C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub> )	Antiinflamasi, antiprotozoa (Way2Drugs, 2022)
8.	22,255	0,04	Acetaldehyde cis-3-hexenyl pentyl acetal (C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub> )	Antiinflamasi (Way2Drugs, 2022)



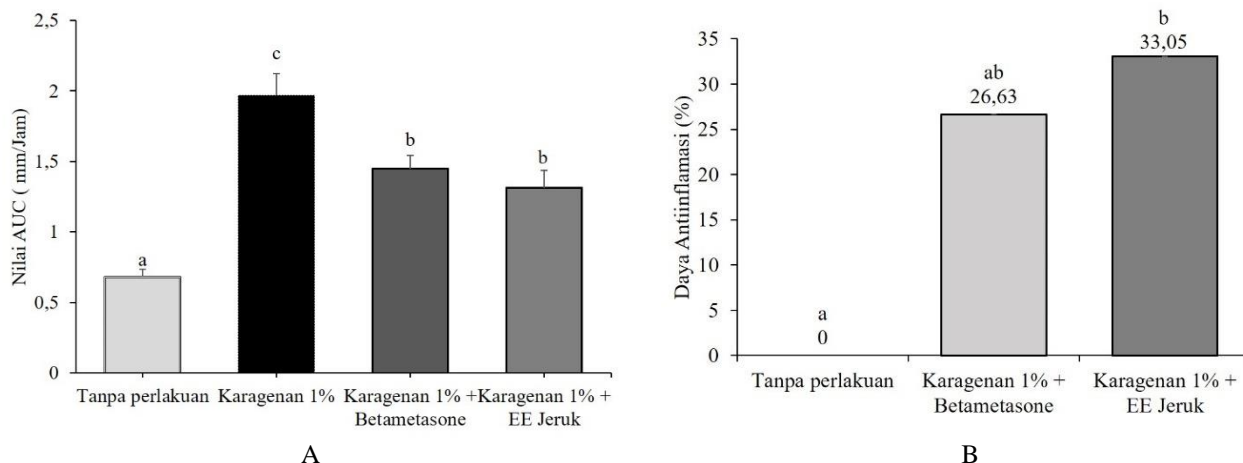
**Gambar 1.** Kondisi inflamasi pada mencit setelah diinjeksi karagenan dan diberi perlakuan dengan eko-enzim sampah kulit jeruk. Area yang diberi tanda menunjukkan lokasi terjadinya inflamasi dan merupakan ketebalan lipatan kulit terbesar pada jam ke 1,5 jam pengamatan dan 6 jam pengamatan

Berdasarkan pengamatan terhadap inflamasi selama enam jam secara visual, terdapat perbedaan yang signifikan pada tebal lipatan kulit punggung mencit. Diketahui bahwa tebal lipatan kulit punggung mencit yang hanya diinjeksi karagenan 1% (tanpa eko-enzim) mengalami penebalan yang sangat kontras terutama satu setengah jam setelah injeksi dibandingkan perlakuan yang lainnya. Sedangkan pada kelompok yang diberi obat komersial Betametasone dan pemberian eko-enzim sampah kulit jeruk tetap terjadi penebalan, tetapi dengan kondisi yang lebih ringan. Untuk pengamatan pada jam-jam selanjutnya, tebal lipatan kulit pada mencit terus mengalami penurunan.

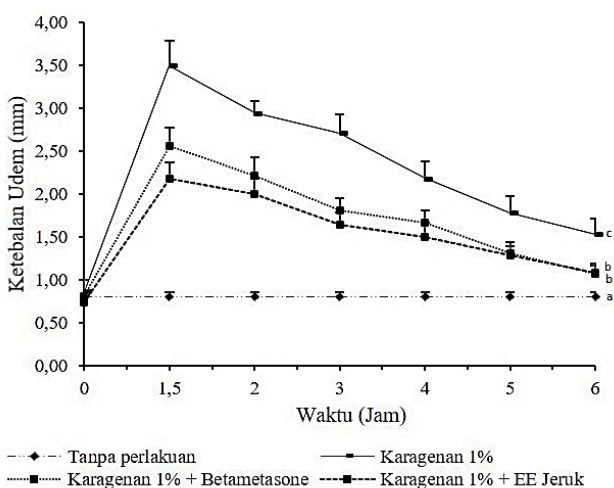
Dari hasil pengukuran terhadap tebal lipatan kulit punggung mencit selama pengamatan (Gambar 2) terdapat perbedaan yang signifikan ( $P < 0,05$ ) antara kelompok yang hanya diinjeksi karagenan saja dengan kelompok yang diberi perlakuan eko-enzim dan Betametasone. Ketebalan lipatan kulit punggung pada mencit yang paling tinggi adalah pada 1,5 jam setelah injeksi karagenan, dengan ketebalan lipatan kulit paling tebal yaitu pada perlakuan yang hanya diinduksi karagenan 1% sebesar  $3,49 \pm 0,29$  mm

dan tebal kulit paling rendah pada jam yang sama yaitu pada perlakuan diolesi oleh eko-enzim sampah kulit jeruk dengan ketebalan  $2,18 \pm 0,19$  mm. setelah itu, ketebalan lipatan kulit punggung mencit terus mengalami penurunan pada setiap perlakuan seiring dengan semakin lama waktu pengamatan.

Berdasarkan data pada Gambar 3A, diketahui bahwa nilai AUC tertinggi terdapat pada mencit yang diinduksi dengan karagenan 1% saja, sedangkan nilai AUC yang paling rendah dan mendekati nilai AUC kelompok kontrol adalah mencit yang diberi perlakuan eko-enzim sampah kulit jeruk. Urutan nilai AUC dari tertinggi ke terendah yaitu perlakuan yang diinduksi karagenan 1% ( $1,97 \pm 0,15$  mm.jam), diolesi salep komersial Betametasone ( $1,45 \pm 0,095$  mm.jam), eko-enzim sampah kulit jeruk ( $1,31 \pm 0,12$  mm.jam), dan kelompok kontrol ( $0,68 \pm 0,06$  mm.jam). Berdasarkan analisis statistik diperoleh hasil bahwa nilai AUC pada perlakuan yang diberi eko-enzim sampah kulit jeruk berbeda signifikan terhadap perlakuan yang hanya diinduksi karagenan saja.



**Gambar 3.** (A) Nilai Area Under Curve (AUC); (B) Persentase daya antiinflamasi eko-enzim sampah kulit jeruk. Keterangan: Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) berdasarkan uji Duncan



**Gambar 2.** Grafik tebal lipatan kulit punggung mencit inflamasi yang diaplikasikan eko-enzim sampah kulit jeruk. Keterangan: Huruf kecil yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) berdasarkan uji Duncan

Berdasarkan nilai daya antiinflamsi (Gambar 3B), diketahui bahwa eko-enzim sampah kulit jeruk memiliki daya antiinflamasi tertinggi, yaitu senilai 33,05%. Nilai tersebut berbeda signifikan ( $P < 0,05$ ) dengan perlakuan yang diberi obat komersial Betametason. Hal ini mengindikasikan bahwa eko-enzim sampah kulit jeruk mengungguli efektivitas antiinflamasi obat komersial (Betametason).

**Kuantitas nilai darah mencit inflamasi yang diaplikasikan larutan eko-enzim kulit buah jeruk**

Selain timbulnya udem kuantitas nilai darah juga dapat menggambarkan inflamasi secara fisiologis ketika terjadi reaksi inflamasi. Berdasarkan analisis yang dilakukan didapatkan kuantitas nilai darah mencit setelah 6 jam pasca perlakuan seperti yang tertera pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Dari hasil perhitungan jumlah rata-rata leukosit total (Tabel 3) pada mencit setelah 6 jam pasca perlakuan, diketahui bahwa pemberian eko-enzim jeruk mampu menekan nilai leukosit total, limfosit, monosit dan granulosit pada mencit yang diinduksi inflamasi. Pada mencit yang diberi perlakuan eko-enzim sampah kulit jeruk nilai komponen leukosit total yaitu leukosit ( $5,83 \pm 0,88$  ab), limfosit ( $2,87 \pm 0,53$  ab), monosit ( $0,53 \pm 0,08$  a) dan granulosit ( $1,95 \pm 0,29$  ab), nilai tersebut tidak berbeda signifikan dengan nilai komponen leukosit pada perlakuan yang diberi obat komersial Betametason. Untuk mencit yang di induksi karagenan saja menunjukkan nilai leukosit yang lebih tinggi dari kelompok yang diberi perlakuan eko-enzim dan Betametason. Hal ini mengindikasikan bahwa eko-enzim sampah kulit jeruk secara signifikan mampu menekan nilai leukosit total, limfosit, monosit dan granulosit.

Berdasarkan data pada Tabel 4 diketahui bahwa kuantitas nilai darah selain leukosit menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan. Seluruh parameter memiliki rata-rata yang tidak jauh berbeda dengan standar yang ditetapkan oleh Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan (2022). Ha ini mengindikasikan bahwa eko-enzim sampah kulit jeruk tidak memberikan efek samping yang buruk pada nilai darah lainnya.

**Tabel 3.** Nilai rata-rata kuantitas leukosit total, limfosit, monosit dan granulosit pada mencit perlakuan

Perlakuan	Rata-rata kuantitas nilai leukosit total mencit			
	Leukosit (2,6-10,1) 10 <sup>3</sup> /µl	Limfosit (1,3-8,4) 10 <sup>3</sup> /µl	Monosit (0,0-0,3) 10 <sup>3</sup> /µl	Granulosit (0,4-2,0) 10 <sup>3</sup> /µl
Karagenan 1%	8,65 ± 1,44 b	4,26 ± 0,75 b	0,80 ± 0,15 a	2,88 ± 0,61 ab
Karagenan 1% + Betametasone	3,1 ± 0,65 a	1,63 ± 0,32 a	0,50 ± 0,24 a	1,27 ± 0,3 a
Karagenan 1% + EE Jeruk	5,83 ± 0,88 ab	2,87 ± 0,53 ab	0,53 ± 0,08 a	1,95 ± 0,29 ab

Keterangan: Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05) berdasarkan uji Duncan

**Tabel 4.** Nilai rata-rata kuantitas nilai darah lainnya pada mencit perlakuan

Perlakuan	Rata-rata nilai darah mencit						
	Hemoglobin (10,0-16,1) g/dL	Eritrosit (6,50-10,10) 10 <sup>6</sup> /µl	Hematokrit (32,8-48,0) %	MCV (42,3-55,9) fL	MCHC (29,5-35,1) g/dL	RDW (0,0-99,9) %	Platelet (250-1540) 10 <sup>3</sup> /µl
Karagenan 1%	13,80 ± 2,64 b	10,30 ± 1,99 b	41,05 ± 7,84 b	39,90 ± 7,88 a	33,73 ± 6,75 b	21,38 ± 4,23 b	201,50 ± 46,25 a
Karagenan 1% + Betametasone	12,20 ± 1,97 a	7,36 ± 1,14 a	35,00 ± 5,62 a	47,68 ± 8 b	34,88 ± 5,63 b	18,60 ± 2,88 a	170,33 ± 42,72 a
Karagenan 1% + EE Jeruk	13,33 ± 2,57 ab	9,82 ± 1,75 b	45,80 ± 8,49 b	46,33 ± 7,75 b	31,30 ± 5,1 a	18,75 ± 3,15 a	431,75 ± 78,33 b

Keterangan: Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05) berdasarkan uji Duncan

## Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa eko-enzim kulit jeruk memiliki daya antiinflamasi yang lebih tinggi dari obat antiinflamasi komersial, yaitu senilai 33,05%. Eko-enzim sampah kulit jeruk juga mampu menekan nilai leukosit yang berperan dalam respon inflamasi. Berdasarkan uji fitokimia menunjukkan eko-enzim dari sampah kulit jeruk mengandung beberapa senyawa yang berperan dalam antiinflamasi.

Eko-enzim sampah kulit jeruk mengandung 5 senyawa yang berperan dalam antiinflamasi, khususnya sebagai inhibitor prostaglandin (mediator inflamasi). Apabila pembentukan prostaglandin dihambat, maka reaksi inflamasi juga tidak akan terjadi sehingga jumlah leukosit dalam darah berada dalam kisaran normal.

Dari hasil perlakuan pada (Gambar 1) dan (Gambar 2) menunjukkan semua perlakuan mengalami peningkatan tebal kulit punggung mencit pada satu setengah jam setelah diinduksi karagenan 1%. Apridamayanti et al. (2018) mengatakan bahwa peningkatan volume udem diakibatkan karena adanya pelepasan mediator-mediator inflamasi seperti histamin, bradikinin, serotonin, dan prostaglandin pada jaringan setelah diinduksi karagenan. Hal ini membuktikan induksi karagenan dapat menimbulkan pembengkakan atau udem yang merupakan salah satu respon terjadinya inflamasi. Karagen merupakan suatu zat asing yang kalau masuk ke dalam tubuh akan merangsang pelepasan mediator radang seperti histamin sehingga menimbulkan radang akibat antibodi tubuh bereaksi dengan zat asing tersebut untuk melawan pengaruhnya (Yusuf et al. 2021). Mekanisme kerja karagenan ada tiga fase pembentukan edema yang diinduksi karagenan. Fase pertama adalah pelepasan histamin dan serotonin yang berlangsung hingga 90 menit. Fase kedua adalah pelepasan bradikinin yang terjadi pada 1,5 hingga 2,5 jam setelah

diinduksi. Pada fase ketiga, terjadi pelepasan prostaglandin pada 3 jam setelah induksi, kemudian edema berkembang cepat dan bertahan pada volume maksimal sekitar 6 jam setelah induksi (Lubis et al. 2019). Pada pengamatan ketebalan lipatan punggung mencit, punggung yang lipatan kulitnya paling tebal setiap jamnya adalah perlakuan yang hanya diinjeksi karagenan 1%, hal ini disebabkan karena inflamasinya berjalan secara alami tanpa ada pencegahan dari obat antiinflamasi (Apridamayanti et al. 2018).

Pada (Gambar 3A) grafik memberikan informasi bahwa nilai rerata AUC kelompok perlakuan yang diberi eko-enzim sampah kulit jeruk memiliki nilai AUC lebih rendah dari kelompok yang diolesi obat komersial yang sudah terbukti sebagai antiinflamasi yaitu (1,31 ± 0,12 mm.jam). Nilai ini berbeda signifikan dengan kelompok yang diinjeksi karagenan saja. Hal ini membuktikan bahwa eko-enzim sampah kulit jeruk 200 µl memiliki efek sebagai agen anti-inflamasi lebih kuat dari obat komersial Betametasone.

Daya antiinflamasi merupakan gambaran penghambatan gejala peradangan. Menurut Fitriyanti et al. (2020) persentase daya antiinflamasi menunjukkan persentase kemampuan suatu senyawa dalam aktivitas antiinflamasi. Aktivitas antiinflamasi paling tinggi pada (gambar 3B) ditunjukkan pada perlakuan yang diolesi eko-enzim sampah kulit jeruk yaitu 33,05%. Nilai ini lebih tinggi dari daya antiinflamasi pada perlakuan yang di olesi komersial Betametasone. Hal ini dikarenakan zat antiinflamasi dalam eko-enzim sampah kulit jeruk lebih banyak dari pada yang ada dalam obat komersial. Hal ini sesuai dengan pernyataan Harianto et al. (2021) yang mengatakan jika dibandingkan dengan kemampuan antioksidan pada ekstrak ternyata dalam sediaan salep kemampuan antioksidannya menurun, dikarenakan kandungan ekstrak pada sediaan salep jauh lebih sedikit

dibandingkan dengan ekstrak. Hal ini menyebabkan kemampuan dalam menangkal radikal bebas menjadi lebih kecil (Harianto et al. 2021).

Respon inflamasi melibatkan jaringan yang terkoordinasi dari banyak jenis sel. Sel-sel yang berperan dalam inflamasi yaitu eritrosit, neutrofil, basofil, eosinofil, platelet, limfosit, sel mast, sel dendritic, sel NK (*natural killer*), dan *antigen presenting cells* (Nuroini et al. 2017). Reaksi vaskuler yang terjadi ketika inflamasi memungkinkan elemen-elemen darah, leukosit dan mediator kimia menuju daerah inflamasi. Jenis sel yang direkrut ke lokasi cedera yaitu neutrofil, monosit, limfosit, dan sel mast. Menurut Harlim (2018), yang berperan dalam inflamasi akut adalah neutrofil dan monosit. Neutrofil berfungsi untuk mengaktifasi sel T dan melepaskan faktor untuk merekrut monosit. Monosit dalam darah berdiferensiasi menjadi makrofag yang berfungsi dalam proses fagositosis (Robb et al. 2016). Dari hasil analisis nilai darah mencit 6 jam setelah injeksi karagenan (Tabel 3) menunjukkan bahwa eko-enzim kulit jeruk mampu menekan komponen leukosit total, limfosit, monosit dan granulosit yang berperan dalam reaksi inflamasi. Nilai tersebut menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok yang di induksi karagenan saja. Untuk nilai darah selain leukosit total menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan. Jadi, dapat diartikan bahwa senyawa dalam eko-enzim kulit jeruk mampu menekan inflamasi dan nilai leukosit mencit yang diinduksi inflamasi tanpa mempengaruhi nilai darah lainnya.

Mekanisme senyawa antiinflamasi yang terdapat dalam eko-enzim sampah kulit jeruk terhadap aktivitas anti-inflamasi yaitu dengan cara menghambat proses pelepasan mediator kimia seperti serotonin dan histamin yang merupakan mediator pro-inflamasi ke tempat terjadinya radang. Aloxiprin sudah digunakan sebagai obat antiinflamasi nonsteroid. Aloxiprin secara ireversibel menghambat aktivitas COX-1 dan COX-2 dengan mengasetilasi residu serin (Ser529 dan Ser516) yang ditempatkan di saluran pengikatan asam arakidonat, sehingga menghambat sintesis prostaglandin dan mengurangi respon inflamasi (Inxigh drugs, 2022).

Senyawa antioksidan Hydroperoxide, 1-methylpentyl, 7-Hexadecenal, (Z)-, Hexadecanoic acid, 2-Hydroxy-1,1,10-trimethyl-6,9-epidioxydecalin dan Acetal-dehyde cis-3-hexenyl pentyl acetal sebagai agen antiinflamasi berperan sebagai inhibitor prostaglandin (Pubchem 2022). Senyawa antioksidan bekerja pada mediator utama yang berasal dari sintesis prostaglandin melalui penghambatan kinerja enzim siklooksigenase 2 (COX-2) dan enzim lipooksigenase yang menyebabkan penghambatan biosintesis isprostaglandin dan leukotriene yang merupakan produk akhir dari jalur COX dan lipooksigenase. Hal ini menghambat akumulasi leukosit dan degranulasi netrofil sehingga pelepasan asam arakidonat oleh netrofil berkurang, dan pelepasan histamine terhambat. Selama inflamasi berbagai mediator turunan endotel dan faktor komelemen menyebabkan adhesi leukosit ke dinding endotel. Pemberian senyawa antioksidan yang berperan sebagai antiinflamasi dapat menurunkan adhesi leukosit ke endotel dan mengurangi aktivasi komelemen sehingga

terjadi penurunan respon inflamasi (Wardani 2020). Ketika pembentukan senyawa prostaglandin terhambat maka efek inflamasi tidak terjadi (Marbun dan Restuati 2015).

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa eko-enzim dari sampah kulit jeruk (*Citrus* sp.) efektif dalam mengatasi inflamasi yang diindikasikan dengan nilai daya antiinflamasi melampaui obat komersil Betametasone. Selain itu, eko-enzim kulit jeruk dapat meregulasi nilai darah terutama yang terkait dengan komponen leukosit. Dalam eko-enzim kulit buah jeruk teridentifikasi beberapa senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antiinflamasi (Aloxiprin, Hydroperoxide, 1-methylpentyl, Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid, 2-Hydroxy-1,1,10-trimethyl-6,9-epidioxyde-cali dan Acetaldehyde cis-3-hexenyl pentyl acetal). Dengan demikian eko-enzim kulit jeruk sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antiinflamasi yang efektif dan terjangkau di masa datang.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ucapkan terimakasih kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi Republik Indonesia, yang telah mendanai penelitian ini melalui Hibah Program Kreativitas Mahasiswa (PKM-RE tahun 2022; 2489/E2/KM.05.01/2022). Selanjutnya ucapan terimakasih kami sampaikan kepada kepala Laboratorium Kesehatan Padang Sumatera Barat, kepala Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Andalas.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustina R, Indrawati DT, Masruhin MA. 2015. Aktivitas ekstrak daun salam (*Eugenia palyantha*) sebagai antiinflamasi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). *J Trop Pharm Chem* 3 (2): 120-123. DOI: 10.25026/jtpc.v3i2.96. [Indonesian]
- Apridamayanti P, Sanera F, Robiyanto R. 2018. Antiinflammatory activity of ethanolic extract from karas leaves (*Aquilaria malaccensis* Lamk.). *Pharm Sci Res* 5 (3): 152-158.
- Arief R, Tharir Z, Kristiana. 2018. Uji Aktivitas Antiinflamasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm. F) terhadap Udemata Kulit Punggung Mencit (*Mus Musculus*). Program Studi Akademi Farmasi Yamasi Makassar, Akademi Farmasi Yamasi Makassar. [Indonesian]
- Bustanussalam. 2016. Pemanfaatan obat tradisional (herbal) sebagai obat alternatif. *BioTrends* 7 (1). [Indonesian]
- Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan (Disnakeswan). 2022. Standar Nilai Darah Mencit. Jakarta. [Indonesian]
- Fitriyanti, Hikmah N, Astuti KI. 2020. Efek antiinflamasi infusa bunga asoka (*Ixora coccinea* l) pada tikus jantan yang diinduksi karagenan. *Jurnal Sains dan Kesehatan* 2 (4): 355-359. DOI: 10.25026/jsk.v2i4.177. [Indonesian]
- Harianto SW, Prasetyaningsih A, Prakasita VC. 2021. Uji efektivitas salep kulit batang kapuk randu (*Ceiba pentandra*) sebagai obat anti-inflamasi. *EduMatSains Jurnal Pendidikan, Matematika dan Sains* 6 (1): 47-60. DOI: 10.33541/edumatsains.v6i1.2799. [Indonesian]
- Harlim A. 2018. Buku Ajar Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Immunologi Inflamasi. Edisi 1. Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Indonesia, Jakarta. [Indonesian]
- Hasanah Y. 2020. Eco enzyme and its benefits for organic rice production and disinfectant. *J Saintech Transfer* 3 (2): 119-128. DOI: 10.32734/jst.v3i2.4519.
- Imelda D, Alif B, Satriawan BD. 2021. Pembuatan Produk *Multipurpose Cleaner* dengan Pemanfaatan *Eco Enzyme* dari Limbah Kulit Buah sebagai Bahan Aktif Natural Antimikroba. Fakultas Teknologi Industri. Universitas Jayabaya, Jakarta. [Indonesian]

- Inxigh Drugs. 2022. National Center for Advancing Translational Sciences. <https://drugs.ncats.io/-substances?q=%22ALOXIPRIN%22&facet=Substance%20Form%2FPrincipal%20Form>.
- Kurniasih TR. 2014. Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* Hall.F.) secara Topikal pada Mencit Betina Galur Swiss Terinduksi Karagenin. [Skripsi]. Program Studi Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta. [Indonesian]
- Lubis B, Saputri IN, Ajartha R, Bangun SMB, Pranata C, Purba N, Turnip NUMB. 2019. Anti-inflammatory activity test for ethanol extract moon flower (*Tithonia diversifolia*) leaves to male white mice. ICHIMAT 551-557. DOI: 10.5220/0009974705510557.
- Marbun EMA, Restuati M. 2015. Pengaruh ekstrak etanol daun buah-buhas (*Premna pubescens* Blume) sebagai antiinflamasi pada edema kaki tikus putih (*Rattus norvegicus*). Jurnal Biosains 1 (3): 107-112. DOI: 10.24114/jbio.v1i3.2930. [Indonesian]
- Mavani HAK, Tew IM, Wong L, Yew HZ, Mahyuddin A, Ghazali RA, Pow EHN. 2020. antimicrobial efficacy of fruit peels eco-enzyme against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. Intl J Environ Res Publ Health 5107: 1-12. DOI: 10.3390/ijerph17145107.
- Nifinluri CMB, Datu OS, Potalangi NO, Pareta DN. 2019. Uji aktivitas anti-inflamasi ekstrak etanol kulit buah pisang kepok *Musa balbisiana* terhadap kaki tikus putih *Rattus norvegicus*. Jurnal Biofarmasetikal Tropis 2 (2): 15-22. DOI: 10.55724/jbiofarmtrop.v2i2.90. [Indonesian]
- Nuroini F, Wijayanti N. 2017. Uji efek antiinflamasi sarang burung walet (*Collocalia fuciphaga* Thunberg) terhadap gambaran histologis telapak kaki mencit (*Mus musculus* Linnaeus). Jurnal Labora Medika 1 (1): 21-26. [Indonesian]
- Pubchem. 2022. National Library of Medicine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Pujiastuti INE, Lestari SR, Gofur A. 2017. Gambaran hematologi mencit (*Mus musculus*) model toksisitas subkronis. Scripta Biologica 4 (2): 75-78. DOI: 10.20884/1.sb.2017.4.2.371. [Indonesian]
- Rahayu MR, Muliarta IN, Situmeang YP. 2021. Acceleration of production natural disinfectants from the combination of eco-enzyme domestic organic waste and frangipani flowers (*Plumeria alba*). SEAS (Sustain Environ Agric Sci) 5 (1): 15-21. DOI: 10.22225/seas.5.1.3165.15-21.
- Robb CT, Regan KH, Dorward DA, Rossi AG. 2016. Key mechanisms governing resolution of lung inflammation. Semin Immunopathol 38: 425-448. DOI: 10.1007/s00281-016-0560-6.
- Rochyani N, Utpalasari RL, Dahliana I. 2020. Analisis hasil konversi eco enzyme menggunakan nanas (*Ananas comosus*) dan pepaya (*Carica papaya* L.). Jurnal Universitas PGRI Palembang 5 (2): 116-134. DOI: 10.31851/redoks.v5i2.5060. [Indonesian]
- Sukmawati, Yuliet, Hardani R. 2015. Uji aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun pisang ambon (*Musa paradisiaca* L.) terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) yang diinduksi karagenan. GALENIKA J Pharm 1 (2): 126-132. DOI: 10.22487/j24428744.2015.v1.i2.6244. [Indonesian]
- Wardani IGAAK. 2020. Efektivitas gel ekstrak bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) sebagai antiinflamasi terhadap mencit yang diinduksi karagenan. Jurnal Ilmiah Medicamento 6 (1): 66-71. DOI: 10.36733/medicamento.v6i1.808. [Indonesian]
- Way2Drugs. 2022. Understanding Chemical-Biological Interaction. <http://way2drug.com/passonline/predict.php>.
- Yusuf M, Sari PI, Wijaya A. 2021. Efek antiinflamasi ekstrak etanol daun lamun (*Enhalus acoroides*) terhadap mencit (*Mus musculus*) jantan yang diinduksi karagen. Jurnal Ilmiah Manuntung 7 (2): 165-174. [Indonesian]