

UJI INHIBISI ENZIM SIKLOOKSIGENASE-2 (COX-2) dari EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata* Linn.) SEBAGAI ANTIINFLAMASI

Erayadi Soekaryo¹, Partomuan simanjuntak², Siswa setyahadi²).

¹Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila
email: erayadisoekaryo@yahoo.com

²Fakultas Farmasi Pancasila, Universitas Pancasila
email: magisterfarmasiup@gmail.com

Abstract

*In tackling the symptoms of pain, inflammation and stiffness have long used drugs known as anti-inflammatory analgesics or NSAIDs (Non Steroidal Anti-Inflammatory Drugs), and corticosteroids were more have side effects. The enzyme cyclooxygenase (COX) is the main enzyme in the biosynthesis of prostaglandins from arachidonic acid formation. There are two isoenzymes, namely COX-1 and COX-2. Pharmacological inhibition of COX enzymes can be done with a class of drugs non seteroid anti-inflammatory (NSAID) to relieve inflammation and pain. Soursop (*Annona muricata* Linn.) is a tropical plant of the family Annonaceae. The leaves of the soursop plant is reported to contain essential oils and empirically useful as an anti inflammation. The purpose of this study was to find out information on anti-inflammatory activity by inhibition of Cyclooxygenase 2 (COX-2) of the leaf extract of soursop (*Annona muricata* L.) with the observations made to the decrease of absorbance as a mediator prostaglandin formation of pain. The result showed *Annona muricata* had inhibition activity for COX2 at 115,93ppm for ethanolic extract and 312,82 ppm for water extract of *annona muricata* leaves..*

Keywords: *Inflamation, COX2, Annona murricata, Sirsak, prostaglandin*

1. PENDAHULUAN

Menurut WHO, kanker adalah istilah umum untuk satu kelompok besar penyakit yang dapat mempengaruhi setiap bagian dari tubuh. Istilah lain yang digunakan adalah tumor ganas dan neoplasma. Salah satu fitur mendefinisikan kanker adalah pertumbuhan sel-sel baru secara abnormal yang tumbuh melampaui batas normal, dan yang kemudian dapat menyerang bagian sebelah tubuh dan menyebar ke organ lain. Proses ini disebut metastasis. Kanker adalah penyebab utama kematian di seluruh dunia, akuntansi untuk 8,2 juta kematian pada tahun 2012. Penyebab paling umum kematian kanker adalah kanker dari : paru (1,59 juta kematian), liver (745. 000 kematian), perut (723.000 kematian), kolorektal (694.000 kematian), payudara (521.000 kematian) dan kanker esofagus (400. 000 kematian).(WHO, 2009).

Inflamasi adalah reaksi lokal jaringan terhadap infeksi atau cedera dan melibatkan banyak mediator yang terjadi dalam tubuh manusia. Inflamasi, bila

terjadi terus menerus dalam waktu lama maka merupakan salah satu faktor risiko timbulnya kanker. Inflamasi kronik yang terjadi akan menimbulkan stimulus berulang dan mengakibatkan kerusakan DNA ireversibel, diikuti dengan mutasi onkogen, gen supresor tumor, gen pengatur proliferasi dan apoptosis sel. Hubungan antara inflamasi kronik dengan kanker erat, hal tersebut tampak jelas pada pasien kanker kolorektal yang sebelumnya menderita *inflammatory bowel disease* (IBD)(Lisiane B. Meira et.al,2008).

Nyeri kanker sering merupakan kombinasi nyeri akibat tumornya sendiri, serta segala sesuatu yang berkaitan dengan tumor dan akibat pengobatan. Tempat tumbuhnya tumor adalah juga tempat berlangsungnya inflamasi, yang ditandai dengan peninggian kadar enzim siklooksigenase-2 (COX-2). Nyeri kanker selalu ditanggulangi dengan memberikan analgetik opiat dan non- opiat dari golongan

anti-inflammasi non-steroid (AINS) atau kombinasinya. Sediaan ini bekerja dengan cara menghambat aktivitas enzim siklooksigenase (cyclooxygenase, COX), apakah isoenzim COX-1 atau COX-2 atau keduanya dalam pembentukan prostanooid prostaglandin (PG), prostasiklin dan tromboksan. Prostaglandin tidak hanya mampu menaikkan kepekaan nosiseptor, mediator ini juga diperlukan dalam hal keutuhan mukosa saluran cerna, fisiologi organ tubuh lainnya. Sebagai analgetik, obat-obat golongan AINS mampu menghambat aktivitas COX dengan hambatan COX-2 lebih besar daripada hambatan COX-1. Badan Kesehatan Dunia WHO menganjurkan penggabungan analgetik opiate (misalnya kodein) dan AINS terhadap penderita kanker dengan tingkat nyeri menengah sampai berat. Sedangkan analgetik non-opiat, terutama analgetik anti-inflamasi non-steroid (AINS), merupakan analgetik perifer menghambat aktivitas cyclooxygenase dalam pembentukan prostaglandin sehingga sistem nosiseptor perifer tidak teraktivasi (Aznan Lelo, 2004).

Kebanyakan obat NSAID memiliki efek samping yang serupa karena didasari oleh hambatan pada sistem bio sintesis prostaglandin. Selain itu kebanyakan obat bersifat asam sehingga lebih banyak terkumpul dalam sel yang bersifat asam seperti di lambung, ginjal dan jaringan inflamasi. Efek samping yang paling sering terjadi adalah induksi tukak lambung atau tukak peptik yang kadang-kadang disertai anemia sekunder akibat pendarahan saluran cerna. Beratnya efek samping ini berbeda-beda pada masing-masing obat. Dua mekanisme terjadinya iritasi lambung adalah : (1) iritasi yang bersifat lokal yang menimbulkan difusi kembali asam lambung ke mukosa dan menyebabkan kerusakan jaringan; dan (2) iritasi atau perdarahan lambung yang bersifat sistemik melalui hambatan biosintesis PGE₂ dan PGI₂. Kedua prostaglandin ini banyak ditemukan di mukosa lambung dengan fungsi menghambat sekresi asam lambung dan merangsang sekresi mukus usus halus yang bersifat sitoprotektif (Goth, Andres, 1981)

Enzim adalah katalis protein yang dapat meningkatkan kecepatan reaksi kimia tanpa ikut bereaksi. Enzim memiliki bagian yang disebut *activesite*, yang jika berikatan dengan substrat akan membentuk kompleks enzim-substrat. Reaksi dengan enzim sebagai katalis meningkatkan efisiensi kerjanya dari 10³ menjadi 10⁸ kali lebih cepat daripada tanpa reaksi katalis dengan enzim. Enzim sangat spesifik, berinteraksi dengan satu atau sedikit substrat dan mengkatalis satu tipe reaksi kimia (Champe, et.al, 2005).

Enzim hampir semuanya spesifik untuk satu substrat. Penambahan substrat dan pengamatan terhadap ada atau tidaknya produk memastikan adanya enzim (McPherson, et.al, 2007).

Beberapa faktor yang mempengaruhi kecepatan reaksi enzim adalah : suhu, pH, kekuatan ion, spesifik kation dan konsentrasi anion. Kegagalan untuk mengontrol parameter ini dapat menyebabkan kesalahan dalam pengukuran kecepatan (Copeland, 2000).

Enzim siklooksigenase (COX) atau Prostaglandin H sintase (PGHS) berfungsi sebagai katalis pada tahap pertama proses biosintesis prostaglandin, tromboksan dan prostasiklin. Ada dua bentuk isoform dari enzim siklooksigenase, yaitu COX-1 (PGHS-1; PHS-1, Prostaglandin endoperoksid synthase-1) dan COX-2 (PGHS-2, PHS-2, Prostaglandin endoperoksid synthase-2).

COX-1 adalah bentuk enzim utama yang ditemukan di banyak jaringan dan bertanggung jawab dalam menjaga fungsi normal tubuh termasuk keutuhan mukosa lambung dan pengaturan aliran darah ginjal. Sebaliknya, COX-2 tidak ditemukan di jaringan pada kondisi normal, tetapi diinduksi oleh berbagai stimulus, seperti endotoksin, sitokin, mitogen dan dihubungkan dengan produksi prostaglandin selama proses inflamasi, nyeri, dan respon piretik (Xie, W, 1991).

Namun demikian, pada penelitian lanjutan ditemukan bahwa COX-2 ternyata tidak hanya inducibel melainkan juga konstitutif dan terdapat pada berbagai jaringan. Pada kondisi fisiologis ekspresi konstitutif COX-2 ditemukan pada ginjal,

pembuluh darah, paru-paru, tulang, pankreas, sumsum tulang belakang dan selaput lendir lambung. Nampaknya COX-2 bukan hanya pada kondisi patofisiologis melainkan juga pada kondisi fisiologis normal memiliki peranan penting. Akhirnya COX-1 diformulasikan sebagai enzim konstitutif yang mempertahankan fungsi-fungsi homeostatis, sedangkan COX-2 sebagai enzim regulator yang memiliki fungsi fisiologis maupun patofisiologis. Inhibitor COX klasik bersifat tidak selektif dan menghambat semua jenis COX. Penghambatan yang dihasilkan dari prostaglandin dan tromboksan sintesis memiliki efek peradangan berkurang, serta antipiretik, analgesik antitrombotik dan efek (Xie, W,1991).

Asam arakidonat merupakan asam lemak tak jenuh dengan atom karbon C-20. Asam ini digunakan dalam proses sintesis prostaglandin melalui oksidasi dan siklisasi. Asam arakidonat ini dihasilkan dari hidrolisis fosfolipid penyusun membran lapis rangkap (bilayer) oleh enzim fosfolipase A₂. Asam arakidonat merupakan asam lemak non esensial, karena dapat disintesis di dalam tubuh melalui hidrolisis fosfolipid penyusun membran lapis rangkap. Meskipun begitu, asam arakidonat juga memerlukan prekursor asam lemak esensial yang lain, yaitu asam linoleat yang banyak terdapat pada minyak nabati (Stryer, L. 2000).

2. KAJIAN LITERATUR DAN PENGEMBANGAN HIPOTESIS

Kebanyakan obat NSAID memiliki efek samping yang serupa karena didasari oleh hambatan pada sistem biosintesis prostaglandin. Selain itu kebanyakan obat bersifat asam sehingga lebih banyak terkumpul dalam sel yang bersifat asam seperti di lambung, ginjal dan jaringan inflamasi (Farmakologi dan Terapi,1995).

Berkaitan dengan hal tersebut maka perlu suatu upaya dalam pengembangan obat baru yang diperoleh dari alam atau secara empiris telah digunakan untuk suatu penyakit dengan harapan diperoleh suatu obat dengan resiko efek samping yang lebih kecil. Dalam

dekade terakhir, telah terjadi kenaikan global dalam penggunaan obat tradisional dan pengobatan alternatif di seluruh negara berkembang. Saat ini obat tradisional, produk komplementer dan pengobatan alternatif memainkan peran yang semakin penting dalam sektor pelayanan kesehatan. Berdasarkan hal tersebut maka keamanan, kemanfaatan dan mutu dari obat tradisional menjadi fokus utama bagi otoritas kesehatan khususnya dan masyarakat pada umumnya (WHO,2005).

Alasan paling umum untuk menggunakan obat tradisional adalah bahwa obat tradisional lebih terjangkau, lebih memenuhi harapan pasien seperti menghindari terjadinya efek samping dari bahan kimia (sintesis) obat-obatan, memenuhi keinginan dalam perawatan kesehatan yang bersifat lebih personal, dan lebih mudah bagi masyarakat untuk menerima informasi kesehatan terkait penyakit. Pada dasarnya penggunaan obat tradisional meningkat seiring dengan kondisi dimana pengobatan konvensional ternyata tidak efektif dalam pengobatan penyakit seperti kanker dan penyakit menular yang baru. Selanjutnya, obat tradisional secara luas dianggap sebagai alami dan aman, yaitu, tidak beracun (Iris F. F,2011).

Berbagai obat golongan anti-inflamasi non-steroid (NSAID) telah banyak digunakan secara klinis untuk penyakit inflamasi serta rheumatoid arthritis. Namun, golongan obat tersebut memiliki sejumlah efek samping mulai dari yang ringan sampai serius. Efek samping yang paling sering terjadi adalah tukak lambung atau tukak peptik yang kadang-kadang disertai anemia sekunder akibat pendarahan saluran cerna. Beratnya efek samping ini berbeda-beda pada masing-masing obat. Berkaitan dengan hal tersebut maka diperlukan suatu cara untuk mencari alternatif obat antiinflamasi lain yang lebih tidak menimbulkan efek samping.

Pemanfaatan pengobatan dari bahan alam seperti dari daun Sirsak (*Annona muricata*) sangat mungkin untuk menjadi kandidat alternatif tersebut mengingat potensi dan khasiat dari senyawa kimia aktifnya yang

cukup banyak dan telah lama digunakan secara tradisional. Sampai dengan saat ini pemanfaatan daun-daun Sirsak (*Annona muricata* L.) adalah sebagai obat untuk menangani penyakit kanker dan sebagai suplemen untuk memelihara daya tahan tubuh, namun pemanfaatan untuk antiinflamasi walaupun ada namun masih belum banyak laporan atau penelitian yang membuktikannya. Sirsak (*Annona muricata* L.) termasuk dalam keluarga Annonaceae. *Annona* adalah nama genus dari pohon buah-buahan tropis milik keluarga Annonaceae, yang berjumlah sekitar 119 spesies (Neela Badrie et.al, 2009).

Berdasarkan studi etnomedisin dari tanaman sirsak menunjukkan bahwa tanaman sirsak telah lama digunakan di beberapa negara. Di Brazil, bagian ekstrak air dari daun sirsak digunakan untuk nyeri, rematik, nyeri artritis dan sebagai anti rematik (Schultes, 1990).

Para peneliti telah mempelajari kandungan kimia sirsak sejak tahun 1940. Sebagian besar penelitian tentang salah satu kandungan kimia tanaman sirsak yang telah ditemukan senyawa asetogenin (*Annonaceous acetogenins*). Senyawa ini berhasil diisolasi dari daun, biji batang, kulit kayu, dan buah. Aktivitas utama dari senyawa ini telah diketahui untuk anti tumor, namun beberapa penelitian telah menyebutkan bahwa terdapat pula aktivitas anti inflamasi dari senyawa tersebut (Leslie Taylor, 2005).

Tujuh alkaloid isokuinolin dari sirsak antara lain adalah *reticuline*, *coclaurine*, *coreximine*, *atherosperminine*, *stepharine*, *anomurine* dan *anomuricine* telah diisolasi dari daun, akar dan batang kulit kayu *A. muricata*. Minyak esensial dari pulp buah segar dari *A. muricata* ditemukan mengandung 2-hexenoic acid methyl ester (23,9%), 2-hexenoic etil ester asam (8,6%), 2-metil ester asam octenoic (5,4%), 2-metil ester asam butenoic (2,4%), β -caryophyllene (12,7%), 1,8-cineole (9,9%), linalool (7,8%), α -terpineol (2,8%), linalyl propionat (2,2%), dan calarene (2,2%) sedangkan pada biji ditemukan anomuricatin A (Ragasa, 2012).

Beberapa senyawa asetogenin ditemukan sejauh ini meliputi: *annocatalin*, *annohexocin*, *annomonacin*, *annomontacin*, *annomuricatin* A dan B, *annomuricin* A sampai E, *annomutacin*, *annonacin*, *annonacinone*, *annopentocin* A sampai C, *cis-annonacin*, *ciscorossolone*, *cohibin* A sampai D, *corepoxylone*, *coronin*, *corossolin*, *corossolone*, *donhexocin*, *epomuricenin* A dan B, *gigantetrocin*, *gigantetrocin* A dan B, *gigantetrocinone*, *gigantetronenin*, *goniothalamycin*, *iso-annonacin*, *javoricin*, *montanacin*, *montecristin*, *muracin* A sampai G, *muricapentocin*, *muricatalicin*, *muricatalin*, *muri-catenol*, *muricatetrocin* A dan B, *muricatin* D, *muricatocin* A sampai C, *muricin* H, *muricoreacin*, *murihexocin* 3, *murihexocin* A sampai C, *murihexol*, *murisolin*, *robustocin*, *rolliniastatin* 1 & 2, *sabadelin*, *solamin*, *uvariamicin* I dan IV dan *xylomaticin* (Ivan A. Ross, 2003; Rieser MJ, et.al, 1991).

Tanaman sirsak atau (*Annona muricata* Linn.) adalah tanaman tropis dari keluarga Annonaceae. Daun dari tanaman sirsak dilaporkan mengandung minyak esensial dan secara empiris bermanfaat sebagai anti nyeri, anti parasit, anti rematoid (Gleye C, 1998; 61), aktivitas anti diabetes dan gangguan pencernaan (Adewole SO and Ojewole JAO, 2006; 2) serta digunakan untuk sakit kuning atau *jaundice* (Khan MR, Kornine K and Omoloso AD, *Fitoterapia* 1997; 69).

Di daerah Amazon, penduduk setempat menggunakan daunnya untuk Diuretik kuat pada keadaan edema dan sebagai tonik (33). Di India, ekstrak dari daun sirsak digunakan untuk mengatasi demam (Gbeassor et.al, 1990) dan di Malaysia dalam bentuk sediaan dekok daunnya digunakan untuk diare dan hipertensi (Ilham, M, et.al, 1995).

Orlando Vieira de Sousa et.al, 2010 melakukan penelitian terhadap aktivitas anti nosiseptif dan antiinflamasi dari ekstrak etanol daun sirsak *Annona muricata* L. dengan menggunakan model pada hewan. Ekstrak daun sirsak diberikan secara oral dengan dosis 200 mg dan 400 mg/kgbb 4 jam sebelum diinduksi oleh karegenan. Hasil

penelitian menunjukkan adanya penurunan jumlah volume eksudat 29.25 and 45.74%) serta migrasi lekosit 18.19 and 27.95%) secara signifikan dimana hal tersebut menunjukkan adanya aktivitas antiinflamasi dari ekstrak etanol daun sirsak.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (A.H. Roslida et.al.2008) dilakukan untuk mengetahui efek Anti-Inflamasi dan *Antinociceptive* dari ekstrak daun kering *Annona muricata* L. (Annonaceae) diperoleh ED50 untuk efek anti-inflamasi adalah 16.6 mg/kg dan untuk antinociceptive adalah 112.20mg/kg dan LD50 dihitung dari penelitian toksisitas adalah 859 mg/kg. Kesimpulannya, ekstrak etanol sirsak L memiliki kedua efek anti-inflamasi dan antinociceptive dengan cara yang tergantung dosis.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui informasi aktivitas anti inflamasi secara *in vitro* melalui penghambatan enzim Siklooksigenase 2 (COX-2) dari ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan pengamatan yang dilakukan terhadap penurunan absorban prostaglandin sebagai mediator pembentukan rasa nyeri.

3. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi eksperimental dengan pendekatan kualitatif dan kuantitatif. Data yang didapat berasal dari daya hambat enzim siklooksigenase-2 (COX2). Daun sirsak diambil dari perkebunan disekitar Yogyakarta dan telah dideterminasi oleh Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong, Indonesia.

Bahan-bahan yang digunakan adalah simplisia folium *Annona muricata* L 1 kg, metanol, n-heksan, etil asetat, etanol, celecoxib, plat KLT, silika gel GF, penampak bercak, serbuk KBr, COX2 inhibitor screening KIT (ovine), COX Assay Buffer, COX Probe (in DMSO), COX Cofactor (in DMSO), asam arakidonat, NaOH, COX2, Celecoxib, DMSO aqua tridestillata, diklorometana.

Tahapan penelitian meliputi beberapa tahap kegiatan, yaitu preparasi serbuk kering daun sirsak, pengukuran kadar air serbuk daun sirsak, ekstraksi daun sirsak secara bertingkat dimulai secara berturut-turut dari pelarut n-heksan; etilasetat; etanol; air serata ekstraksi dengan air secara terpisah, uji fitokimia, uji aktivitas ekstrak terhadap α amylase dan α glukosidase serta analisis data.

Penyiapan Serbuk Daun Sirsak Kering dan Penetapan Kadar Air (AOAC 1984) :

Daun sirsak yang digunakan adalah dimulai dari daun yang terletak pada lembar keempat dari pucuk ke arah daun yang lebih tua. Serbuk daun sirsak kering disiapkan dengan mengeringkan daun sirsak menggunakan oven pada suhu 50°C hingga kadar air kurang dari 10%. Daun sirsak kemudian dihaluskan hingga diperoleh serbuk daun sirsak kering berukuran 80 mesh.

Penyiapan Sampel Ekstrak

Penyiapan sampel ekstrak daun sirsak dilakukan dengan metode maserasi bertingkat mulai dari n-heksan; etil asetat; etanol; air dan dekok dengan air dengan perbandingan 1:10. Hasil dari maserasi dan dekok disaring dan filtratnya dikumpulkan. Filtrat kemudian diuapkan dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak daun sirsak.

Uji Aktivitas Enzim Siklooksigenase-2 (COX2) secara In Vitro

Pengujian aktivitas penghambatan siklooksigenase dilakukan secara *in vitro* dengan metode penghambatan aktivitas enzim COX2 terhadap pembentukan asam arakidonat dengan menggunakan COX2 inhibitor screening assay.

Kit yang digunakan terdiri atas larutan COX Assay Buffer, COX Probe (dalam DMSO), substrat asam arakidonat, COX Cofactor (dalam DMSO), NaOH, dan COX2 Human Recombinant.

Kemampuan penghambatan COX2 diperlihatkan oleh lebih rendahnya nilai absorbansi larutan sampel dibandingkan larutan blanko pada pengukuran dengan menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 535 nm dan 587 nm.

Penghambatan aktivitas enzim dihitung sebagai (%) =

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{abs kontrol} - (\text{abs sampel} - \text{abs blanko})}{\text{abs kontrol}} \times 100\%$$

Obat yang digunakan sebagai standar adalah celecoxib yang merupakan obat golongan NSAID yang selektif terhadap COX2.

Uji Fitokimia (Harborne 1987)

Uji fitokimia dilakukan pada ekstran yang mempunyai aktivitas inhibisi COX2.

Identifikasi Alkaloid.

0.05 gram ekstrak daun sirsak diberi 10 mL kloroform dan beberapa tetes amoniak. Fraksi kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan H₂SO₄ M. Fraksi asam diambil dan dibagi menjadi 3 bagian, kemudian ditambahkan pereaksi Dragendorf, Meyer, dan Wagner. Alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada pereaksi Meyer, endapan merah pada pereaksi Dragendorf, dan endapan coklat pada endapan pereaksi Wagner.

Identifikasi Flavonoid.

0.05 gram ekstrak daun sirsak ditambah 10 mL air. Campuran kemudian dipanaskan selama 5 menit, disaring, dan diambil filtratnya. Filtrat diberi serbuk Mg, 1 mL HCl pekat, dan 1 mL amil alkohol. Campuran dikocok kuat-kuat. Uji positif flavonoid ditandai dengan munculnya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol.

Identifikasi Saponin.

0.05 gram ekstrak daun sirsak ditambah air kemudian dididihkan selama beberapa menit. Larutan disaring dan filtratnya dikocok kuat-kuat. Timbulnya buih yang stabil selama 10 menit setelah pengocokkan menunjukkan terdapatnya saponin.

Identifikasi Tanin.

0.05 gram ekstrak daun sirsak ditambah air kemudian dididihkan selama beberapa menit. Larutan ini disaring dan filtratnya ditambah FeCl₃ 1% (b/v). Warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan terdapatnya tanin.

3.9 Identifikasi Triterpenoid dan Steroid.

0.05 gram ekstrak daun sirsak ditambah 25 mL etanol 30% lalu dipanaskan selama 5 menit dan disaring. Filtratnya diuapkan lalu ditambah eter. Lapisan eter ditambah pereaksi Lieberman Buchard. Warna merah atau ungu menunjukkan triterpenoid. Warna hijau atau biru menunjukkan steroid.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Proses ekstraksi dari simplisia daun *Annona muricata* Linn. dilakukan dengan cara maserasi bertingkat berturut-turut dengan menggunakan pelarut n-heksan; etilasetat; etanol 96%; air sebanyak 10 L selama 24 jam dan dilakukan pengulangan sebanyak 2x. Ekstrak hasil penyarian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Dari hasil percobaan diperoleh rendemen ekstrak kering seperti yang ditunjukkan ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil ekstrak daun sirsak

Sampel Bobot (g)	Rendemen	(%)
Heksan	6,62	0,44
Etil Asetat	19,72	1,31
Butanol	9,98	0,66
Air	12,93	0,86

* dihitung terhadap 1,5 kg simplisia kering

Rendemen fraksi etil asetat yang tinggi dikarenakan dari polaritas dari etil asetat yang bersifat semi polar. Sesuai dengan asas like dissolves like maka sebagian besar senyawa baik yang polar maupun non polar akan terlarut didalamnya.

Uji Aktivitas Inhibisi COX2

Hasil pengamatan aktivitas inhibisi COX2 dari ekstrak daun sirsak dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 2. IC₅₀ ekstrak daun sirsak

Fraksi	IC ₅₀ (ppm)
Ekstrak n-heksan	5103078,44
Ekstrak etil asetat	19238,41
Ekstrak Etanol	115,93
Ekstrak air maserasi langsung	312,82
Ekstrak air maserasi	2171290,96

tidak langsung	
----------------	--

Tabel 3. Inhibisi COX2 oleh ekstrak etanol dan air

ppm	Ekstrak etanol (% inhibisi)	Ekstrak Air Maserasi Langsung (% inhibisi)
1000	64.391	55.890
500	57.898	52.544
250	54.150	48.862
125	50.067	45.448
62.5	47.055	41.432

Berdasarkan data yang diperoleh, terlihat bahwa ekstrak daun sirsak memiliki aktivitas terhadap enzim COX2. Ekstrak yang memiliki aktivitas inhibisi tinggi terhadap COX2 adalah ekstrak etanol dengan IC₅₀ 115,93 ppm dan ekstrak air langsung dengan IC₅₀ 312,82 ppm.

Daun sirsak telah diketahui memiliki senyawa aktif utama yaitu asetogenin atau dikenal dengan nama *Annonaceous acetogenins*. Senyawa aktif tersebut diduga memiliki banyak aktivitas biologi selain kanker, diantaranya pada penelitian ini adalah sebagai antiinflamasi.

Pada penelitian standar yang digunakan adalah celecoxib suatu obat golongan NSAID yang memiliki IC₅₀ sebesar 0,47 μM.

Uji fitokimia dilakukan pada fraksi yang mempunyai aktivitas inhibisi paling besar terhadap kedua enzim. Hasil uji fitokimia fraksi air dan fraksi etanol ditunjukkan pada tabel 3.

Tabel 4. Uji fitokimia ekstrak air dan ekstrak etanol daun sirsak

Uji	Ekstrak	
	Air	Etanol
Alkaloid	+	+
Meyer	+	+
Wagner	+	+
Dragendorf	+	+

Flavonoid	+	+
Tanin	+	+
Saponin	+	+
Triterpenoid	-	-
Steroid	+	++

Keterangan: - = tidak terdeteksi

+ = terdeteksi

++ = terdeteksi lebih kuat

5. KESIMPULAN

Ekstrak etanol dan air dari daun sirsak menunjukkan aktivitas inhibisi enzim COX2 sehingga dapat disimpulkan bahwa penggunaan daun sirsak dapat untuk meredakan nyeri terlihat dari persentase rata-rata penghambatan enzim COX2 sehingga dapat dikatakan proses pembentukan prostaglandin sebagai mediator nyeri dapat terhambat. Ekstrak ini juga mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas enzim tersebut diatas.

6. REFERENSI

WHO, 2009-World Cancer Report 2014.

Lisiane B. Meira et.al., DNA damage induced by chronic inflammation contributes to colon carcinogenesis in mice, Journal of Clinical Investigation, June 2, 2008.

Aznan Lelo, D.S. Hidayat, Tri Widyawati, Keuntungan Sediaan "Preferential COX-2 Inhibitor" Dalam Penanggulangan Nyeri Kanker, Fakultas Kedokteran Bagian Farmakologi dan Terapeutik Universitas Sumatera Utara, 2004).

Xie, W., Chipman, J.G., Robertson, D.L., et al., Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing, Proc Natl Acad Sci USA 1991, 88:2692-2696.

Fakultas Kedokteran Indonesia, Bagian Farmakologi, Farmakologi dan terapi, edisi 4 1995, h. 207-217

- World Health Organization Library Cataloguing-in-Publication Data, National policy on traditional medicine and regulation of herbal medicines: Report of a WHO global survey., Geneva, May 2005, h 5-6.
- Iris F. F. Benzie, Sissi Wachtel-Galor, Herbal Medicine, Biomolecular and Clinical Aspects, 2nd edition, CRC Press; 2011
- Schultes, R. E. and Raffauf, J. The Healing Forest: Medicinal and Toxic Plants of the Northwest Amazonia., Portland: R.F. Dioscorides Press. 1990
- Gleye C, Duret P, Laurens A, Hocquenniller R, Laprevote O and Cave A. Journal of Natural Products 1998.; 61: 576-579.
- Adewole SO and Ojewole JA. Pharmacology online 2006; 2: 335-355.
- Khan MR, Kornine K and Omoloso AD. Fitoterapia 1997; 69 (4): 367-369.
- Goth, Andres, Medical Pharmacology, 10th ed., The C.V. Mosby Co., 1981 (263-270).
- Champe, P.C., Harvey R.A., and Ferrier, DR (2005). Lipponcott's Illustrated Reviews: Biochemistry. Philadelphia Lipponcott Williams and Wilkins.
- Copeland, A, Robert, Enzymes: A Practical Introduction to Structure, Mechanism, and Data Analysis. , by Wiley-VCH, Inc ., 2000
- Stryer, L. 2000. Biokimia (volume: 2). Jakarta: Penerbit EGC.
- Neela Badrie, Alexander G. Schauss, Soursop (*Annona muricata* L.): Composition, Nutritional Value, Medicinal Uses, and Toxicology, Department of Food Production, Faculty of Science and Agriculture, University of the West Indies, St. Augustine, Republic of Trinidad and Tobago, West Indies, 2 Natural and Medicinal Products Research, Oxford: Academic Press, 2009, pp. 621-643.
- Leslie Taylor, Technical Data Report for GRAVIOLA (*Annona muricata*), Reprinted from The Healing Power of Rainforest Herbs, Square One Publishers, Inc, 2005, h. 3-4.
- Ivan A. Ross, Medicinal Plants of the World, Volume 1 : Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses Vol.1, Springer Science Business Media New York, 2003, h. 133-138
- Rieser MJ, Kozlowski JF, Wood KV, McLaughlin J. Muricatacin: a simple biologically active acetogenin derivative from the seeds of *Annona muricata* (Annonaceae). Tetrahedron Lett. 1991; 32: 1137-40.
- Gbeassor et.al, In Vitro Antimalarial Activity of Six Medicinal Plants, Phytother Res, 1990
- Ilham, M: Yaday, M: Norhanom Aw, , Tumour Promoting Activity of Plants Used in Malaysian Traditional Medicine, Nat Prod Sci, 1995 11:31-42
- Orlando Vieira de Sousa et.al, Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of the Ethanol Extract of *Annona muricata* L. Leaves in Animal Models, Int. J. Mol. Sci. 2010, 11, 2067-2078
- Ragasa-acetogenin from *Annona muricata*. Phcog J | Nov-Dec 2012 | Vol 4 | Issue 32
- AH. Roslida, A. Zuraini, CE. Tay, PF. Chan, Efek anti-inflamasi dan antinociceptive *Annona muricata* L. (Annonaceae) ekstrak daun, Jurusan Biomedical Sciences, Fakultas Kedokteran & Ilmu Kesehatan, Universiti Putra Malaysia, 43400 Serdang, Selangor, Malaysia., Planta Med 2008; 74