



LP 09/06
Kus
u

LAPORAN PENELITIAN DOSEN MUDA
TAHUN ANGGARAN 2004

**UJI PERMEABILITAS VASKULER EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI
SEBAGAI PARAMETER TERAPI KEBOCORAN PLASMA
PADA INFEKSI DEMAM BERDARAH DENGUE**

Peneliti:

Idha Kusumawati, SSi., Apt., M.Si.
Dr. Suprpto Maat, Apt.
Dra. Rakhmawati, Apt., Msi.

LABORATORIUM PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

dibayai oleh Proyek Peningkatan Penelitian Pendidikan Tinggi
DIP Nomor : 004/XXIII/1/-/2004 Tanggal 3 Januari 2004
Kontrak Nomor : 108/P2IPT/DPPM/DM, SKW/III/2004
Ditjen Dikti, Depdiknas
Nomor Urut : 23.

000906 141

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

November, 2004



LEMBAGA PENELITIAN

- 1. Puslit Pembangunan Regional
- 2. Puslit Obat Tradisional
- 3. Puslit Pengembangan Hukum (5923584)
- 4. Puslit Lingkungan Hidup (5995718)
- 5. Puslit Pengembangan Gizi (5995720)
- 6. Puslit/Studi Wanita (5995722)
- 7. Puslit Olah Raga
- 8. Puslit Bioenergi
- 9. Puslit Kependudukan dan Pembangunan (5995719)
- 10. Puslit Kesehatan Reproduksi

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5962066
 E-mail : lpunair@rad.net.id - http://www.geocities.com/Athens/Olympus/6223

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN DOSEN MUDA

- 1.a. Judul Penelitian: **UJI PERMEABILITAS VASKULER EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI SEBAGAI PARAMETER TERAPI KEBOCORAN PLASMA PADA INFEKSI DEMAM BERDARAH DENGUE**
- b. Kategori Penelitian : I/II/III
2. Ketua Peneliti
- a. Nama Lengkap dan Gelar : Idha Kusumawati, S.Si, Apt, MSi
 - b. Jenis Kelamin : Perempuan
 - c. Golongan Pangkat dan NIP : Penata /IIIc, NIP. 132 133 958
 - d. Jabatan Fungsional : Lektor
 - e. Fakultas/Puslit/Jurusan : Fakultas Farmasi
 - f. Univ./Ins./Akademi : Universitas Airlangga
3. Jumlah Tim Peneliti : 3 orang
4. Lokasi Penelitian : - Lab. Fitokimia, Lab Hewan FF Unair
5. Kerjasama dengan Institusi lain :
- a. Nama Institusi : -
 - b. Alamat : -
6. Masa Penelitian : 6 bulan
7. Biaya yang diperlukan : Rp. 6.000.000

Surabaya, November 2004

Mengetahui :

Dekan Fakultas Farmasi
 Universitas Airlangga

(Prof. Dr. H. Noor Cholies Z, Apt)
 NIP. 130 355 372

Ketua Peneliti

(Idha Kusumawati, S.Si, Apt, MSi)
 NIP. 132 133 958



Menyetujui,
 Ketua Lembaga Penelitian

(Prof. Dr. Sarmanu)
 NIP. 130 701 125

RINGKASAN

UJI PERMEABILITAS VASKULER EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI SEBAGAI PARAMETER TERAPI KEBOCORAN PLASMA PADA INFEKSI DEMAM BERDARAH DENGUE (Idha Kusumawati, Suprpto Maat, Rakhmawati, 2004, 44 halaman)

Jambu biji merupakan salah satu tanaman yang lazim digunakan masyarakat Indonesia sebagai obat. Dari studi klinis telah dibuktikan bahwa ekstrak daun jambu biji dapat digunakan untuk pengobatan demam berdarah. BPOM juga mengembangkan ekstrak daun jambu biji untuk mengatasi penyakit demam berdarah.

Demam berdarah merupakan penyakit yang kasusnya cenderung meningkat setiap tahun dan sering menimbulkan wabah. Pada penderita demam berdarah terdapat dua perubahan patofisiologis utama yang terjadi yaitu peningkatan permeabilitas vaskular dan gangguan hemostasis. Peningkatan permeabilitas vaskular ini menyebabkan terjadinya kebocoran plasma dan dapat menimbulkan syok/kematian. Hal inilah yang dikhawatirkan terjadi sehingga yang paling penting dilakukan adalah bagaimana mengembalikan permeabilitas vaskular ke keadaan normal.

Dari pengembangan jambu biji yang telah mencapai tahap studi klinis dengan hasil yang menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu biji dapat meningkatkan jumlah trombosit pasien DBD secara efektif, dan didukung dengan penelitian sebelumnya yang membuktikan bahwa kuersetin mampu menurunkan permeabilitas vaskular (Skaper, 1997; Zhang, 2003) maka diharapkan daun jambu biji yang juga mengandung kuersetin, dapat menurunkan permeabilitas vaskular, sehingga bisa digunakan untuk pengobatan DBD. Hal ini akan menjadi terobosan yang sangat bermakna karena DBD masih belum ada obatnya.

Pada penelitian ini, daun jambu biji yang digunakan diekstraksi dengan tiga pelarut yang berbeda yaitu etanol 50%, 70% dan 96%. Hal ini didasarkan pada kandungan senyawa markernya yaitu kuersetin dan tanin. Disamping itu karena daun jambu biji mempunyai kandungan senyawa yang kompleks dengan

kelarutan yang berbeda-beda. Untuk itu maka ketiga ekstrak tersebut dilakukan uji kualitatif dan kuantitatif berdasarkan senyawa markernya untuk mengetahui perbedaan kandungan dari ketiga ekstrak tersebut. Setelah itu ketiga ekstrak tersebut digunakan untuk uji permeabilitas vascular dengan metode induksi asam asetat menggunakan mencit.

Pada penelitian ini digunakan mencit putih (*Mus musculus*), jantan, strain BALB/c. Hewan coba tersebut dibagi menjadi 7 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif yang diberi suspensi cab-O-sil dalam 0,5% CMC Na, kelompok kontrol positif I yang diberi suspensi indometasin 0,090 mg / 20 g berat badan mencit, kelompok kontrol positif II yang diberi suspensi kuersetin (dalam 0,5% CMC Na) dengan dosis 0,019 mg / 20 g berat badan mencit, kelompok kontrol positif III yang diberi suspensi Asam galat (dalam 0,5% CMC Na) dengan dosis 0,1 mg / 20 g berat badan mencit dan tiga kelompok uji yang diberi suspensi ekstrak etanol 96% daun jambu biji (dalam 0,5 % CMC Na) dengan dosis 0,742 mg / 20 g berat badan mencit, yang diberi suspensi ekstrak etanol 70% daun jambu biji (dalam 0,5 % CMC Na) dengan dosis 0,777 mg / 20 g berat badan mencit dan yang diberi suspensi ekstrak etanol 50% daun jambu biji (dalam 0,5 % CMC Na) dengan dosis 0,952 mg / 20 g berat badan

Setelah hewan coba diberi perlakuan seperti diatas secara peroral maka empat puluh menit kemudian dilanjutkan dengan pemberian 4% larutan Trypan Blue melalui vena ekor. Tiga puluh menit kemudian mencit diinjeksi intraperitoneal dengan larutan 1% asam asetat lalu setelah 20 menit mencit dibunuh dan rongga perutnya dicuci dengan 5 mL NaCl 0,9%, cairan pencuci tersebut diambil dan disentrifugasi, supernatannya dipisahkan. Kemudian absorbansi dari supernatan tersebut diukur pada λ 583 nm menggunakan spektrofotometer.

Kadar Trypan Blue dalam supernatan yang diperoleh, dianalisis menggunakan metode uji Anova Satu Arah yang dilanjutkan dengan uji HSD. Berdasarkan analisis Anova satu arah diperoleh signifikansi 0,00 (kurang dari 0,05) sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan bermakna antar satu pasang kelompok atau lebih. Sedangkan berdasarkan hasil uji HSD diketahui

bahwa semua kelompok mempunyai perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol negatif.

Dari hasil analisa statistik dapat dilihat bahwa rata-rata kadar Trypan Blue dari kelompok yang diberi perlakuan kuersetin tidak berbeda bermakna dengan kelompok yang diberi perlakuan ekstrak etanol 70%, tapi berbeda bermakna dengan kelompok yang diberi ekstrak etanol 96% dan ekstrak etanol 50%. Jadi dengan kandungan kuersetin yang sama, kelompok yang diberi ekstrak etanol 96% mampu menurunkan kadar Trypan Blue sebesar 56,601 %. Penurunan ini sama dengan kelompok yang diberi asam galat dengan dosis yang sama.

Kelompok yang diberi ekstrak etanol 70% mampu menurunkan rata-rata kadar Trypan Blue sebesar 48% yang tidak berbeda bermakna dengan kelompok yang diberi perlakuan kuersetin, sedangkan kelompok yang diberi perlakuan ekstrak etanol 50% mampu menurunkan rata-rata kadar Trypan Blue hanya sebesar 12,465 %.

Dari hasil yang diperoleh dapat diketahui bahwa aktivitas penurunan permeabilitas vascular dari ekstrak etanol daun jambu biji tidak hanya disebabkan oleh satu senyawa saja (kuersetin saja atau asam galat saja), tapi merupakan aktivitas dari seluruh senyawa yang terkandung di dalamnya. Dilihat dari aktivitasnya dalam menurunkan permeabilitas vascular, maka disarankan untuk menggunakan ekstrak etanol 96% daun jambu biji pada pengobatan demam berdarah, tetapi perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitasnya pada hal-hal lainnya yang terkait dengan patofisiologis demam berdarah.

SUMMARY

The Influence of Ethanol Extract from Leaves of *Psidium guajava* L. to Vascular Permeability Effect in mice

The leaves of *Psidium guajava* L. are used in Indonesian folk medicine. The previous study has reported that extract of guava leaves could be used to treat dengue haemorrhagic fever (DHF). If it has been used to treat DHF, it must have ability to decrease vascular permeability.

Present study was carried out to elucidate the vascular permeability effect of three different ethanolic extract, 50%, 70%, and 96% ethanolic extract obtained from this crude drug, and to find out which extract have the optimum effect. So, the findings of this study thus lend support to the traditional uses of this plant in the treatment of the DHF.

Before the activity test, these extract were qualitative and quantitative determination on the basis of the quercetin constituent, to find out the doses of the extract. This reason was based on the former research which stated that quercetin could decrease vascular permeability. On the basis of the clinically study of this extract previously, the doses of the extract were used on this experiment were equivalent with 5,31 mg quercetin/20 g mice.

Vascular permeability effect of this extract was investigated on acetic acid-induced vascular permeability in mice. Mice were fasted for 2 hours prior to experiments, but were supplied with water ad libitum. Four percent Trypan blue solution in saline was injected intravenously into the tail vein 40 minutes after test solution had been administered orally. After 30 minutes, 1% acetic acid solution

in saline was injected intraperitoneally, and then after 20 minutes mice were killed by inhalation with ether, and the abdominal wall was cut to expose the entrails. After washing of the entrails with saline, the washings were filtered through glasswool and collected into test tubes, and the absorbance was read at 583 nm. Negative control mice were treated similarly, except that they received an oral dose of 2% CMC solution alone. In this study, Indometasin (0,090 mg / 20 g mice), Quercetin (0,019 mg / 20 g mice) and galic acid (0,1015 mg / 20 g mice) were used as a positive control. The amounts of Trypan Blue ($\mu\text{g}/5\text{mL}$) which leaked into the peritoneal cavity were analyzed by Anova One Way method and then significant differences were subsequently examined by HSD method.

The results expressed that all groups had significant difference from the negative control. Among those extract, the 96% ethanol extract, that had the highest of quercetin constituent, showed the maximum inhibitory effect of vascular permeability. The potency of the inhibitory effects was the same as galic acid. These results we could suggest that not only the quercetin was responsible for decreasing vascular permeability in mice

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga dapat menyelesaikan penelitian dengan judul UJI PERMEABILITAS VASKULER EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI SEBAGAI PARAMETER TERAPI KEBOCORAN PLASMA PADA INFEKSI DEMAM BERDARAH DENGUE.

Untuk itu kami menyampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga Prof. Dr. drh, Sarmanu yang telah memberi kesempatan kepada kami untuk mengerjakan penelitian ini
2. Prof. Dr. Noor Cholies Zaini selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan segala fasilitas untuk pengerjaan penelitian ini
3. Kepala Bagian Ilmu Bahan Alam, Dr. Mulja Hadi Santosa, dan Kepala Laboratorium Hewan, Dr. Wahjo Dyatmiko, beserta seluruh staf atas segala fasilitas yang telah disediakan.
4. Seluruh pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini

Semoga penelitian ini berguna baik bagi kami maupun pihak lain yang memanfaatkannya.

Surabaya, Agustus 2004

Peneliti

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	ii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
1. Latar Belakang Masalah	1
2. Rumusan Masalah	7
3. Tujuan Penelitian	7
3.1. Tujuan Umum	7
3.2. Tujuan Khusus.....	7
4. Kontribusi Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
1 Tinjauan tentang Tanaman <i>Psidium guajava</i> L.	8
1.1 Klasifikasi Tanaman	8
1.2 Nama Daerah	8
1.3 Penyebaran dan Tempat Tumbuh	9
1.4 Morfologi Tanaman	9
1.5 Morfologi Simplisia	10
1.6 Zat yang Terkandung dalam Tanaman	11
1.7 Kegunaan Tanaman	13
2 Tinjauan tentang Ekstrak	14
3 Tinjauan tentang Demam Berdarah Dengue	15
3.1 Karakteristik Wabah Demam Berdarah Dengue	15
3.2 Virus Dengue	16
3.3 Penularan Virus Dengue	16
3.4 Manifestasi Penyakit	17
3.5 Patogenesis	18
3.6 Patofisiologi	20
3.7 Tinjauan tentang Respon Kekebalan Tubuh pada Penderita DBD....	22

3.8 Tinjauan tentang Pengobatan Demam Berdarah Dengue	24
4 Tinjauan tentang Permeabilitas Vaskular	25
4.1. Metode Pengujian Permeabilitas vaskular	30
4.2. Tinjauan tentang Indometasin	30
4.3. Tinjauan tentang Kuersetin	32
BAB III METODE PENELITIAN	34
1. Bahan Penelitian	34
1.1 Bahan Uji	34
1.2 Hewan Coba	34
1.3 Bahan Kimia	34
1.4 Alat-alat	34
2. Prosedur Kerja	35
2.1 Pembuatan Ekstrak	35
2.2 Uji Kualitatif Senyawa dalam Ekstrak	36
2.3 Penetapan Kadar Kuersetin	36
2.4 Penentuan Dosis	37
2.5 Penyediaan Sediaan Uji	37
2.6 Perlakuan pada Hewan Coba	37
2.7 Uji Permeabilitas Vaskular yang Diinduksi dengan Asam Asetat	38
3. Analisis Hasil	39
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	53
1. Kesimpulan	53
2. Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	54

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Hasil pembuatan ekstrak etanol 96%, 70% dan 50% dengan metode maserasi-perkolasi	40
Tabel 4.2 Hasil pengamatan noda pada lempeng kromatografi lapis tipis .	40
Tabel 4.3 Perhitungan dosis masing-masing ekstrak etanol daun jambu biji	47
Tabel 4.4 Hasil uji permeabilitas vaskular dengan metode induksi asam asetat	49
Tabel 4.5 Ringkasan hasil statistik Anova Satu Arah dari kadar Trypan Blue ($\mu\text{g}/5\text{mL}$) dalam entrail mencit	50
Tabel 4.6 Ringkasan hasil perhitungan HSD dari kadar Trypan Blue ($\mu\text{g}/5\text{mL}$) dalam entrail mencit	50
Tabel 4.7 Persentase penurunan permeabilitas vaskular (%)	51

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Manifestasi infeksi virus dengue	18
Gambar 2.2 Patogenesis perdarahan pada DBD	20
Gambar 4.1 Lempong KLT yang telah dieluasi dari standard dan masing-masing ekstrak	41
Gambar 4.2 Profil kromatogram standar kuersetin pada λ 254 nm dengan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 2,5) ..	42
Gambar 4.3 Profil kromatogram ekstrak etanol 96% pada λ 254 nm dengan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 2,5)	42
Gambar 4.4 Profil kromatogram ekstrak etanol 70% pada λ 254 nm dengan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 2,5)	43
Gambar 4.5 Profil kromatogram ekstrak etanol 50% pada λ 254 nm dengan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 2,5)	43
Gambar 4.6 Profil kromatogram standar kuersetin pada λ 360 nm dengan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 2,5) ..	44
Gambar 4.7 Profil kromatogram ekstrak etanol 96% pada λ 360 nm dengan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 2,5)	44
Gambar 4.8 Profil kromatogram ekstrak etanol 70% pada λ 360 nm dengan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 2,5)	45
Gambar 4.9 Profil kromatogram ekstrak etanol 50% pada λ 360 nm dengan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 2,5)	45

BAB I

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Angka kesakitan Demam Berdarah Dengue (DBD) di Indonesia cenderung meningkat, mulai 0,05 insiden per 100.000 penduduk di tahun 1968 menjadi 35,19 insiden per 100.000 penduduk di tahun 1998, dan pada saat ini DBD di banyak negara kawasan Asia Tenggara merupakan penyebab utama perawatan anak di rumah sakit. Program pencegahan DBD yang tepat guna harus dilaksanakan secara integral mencakup surveilans *laboratory based*, penyuluhan dan pendidikan pengelolaan penderita bagi dokter dan paramedis, dan pemberantasan sarang nyamuk dengan peran serta masyarakat (Sumarmo, 1999).

Walaupun angka kematian (CFR = *case fatality rate*) menurun secara drastis dari 41,3 % di tahun 1968 menjadi <3% di tahun 1991, akan tetapi terjadinya kegawatan DBD seperti terjadinya sindrom syok dengue/SSD (DSS = *dengue shock syndrome*) yang biasanya terjadi pada hari ke 2-7 yang disebabkan oleh peningkatan permeabilitas vaskuler hingga kebocoran plasma, efusi cairan serosa ke rongga pleura dan peritoneum, hipoproteinemia, hemokonsentrasi dan hipovolemia sampai terjadinya kegagalan mekanisme homeostasis, masih merupakan masalah yang sulit dalam tatalaksana kegawatan DBD, disamping itu perjalanan penyakit DBD sulit diramalkan, pasien yang pada waktu masuk keadaan umumnya tampak baik, dalam waktu singkat dapat memburuk dan tidak tertolong (Rezeki dkk, 1999, Darwis, 1999).

Trombosit dan endotel diperkirakan mempunyai peran penting dalam patogenesis DBD, berdasar kenyataan bahwa pada DBD terjadi trombositopenia disertai peningkatan permeabilitas kapiler. Dua komponen tersebut sejak lama telah diketahui merupakan satu kesatuan fungsi dalam mempertahankan homeostasis, jika salah satu komponen cedera, akan mempengaruhi aktivitas komponen yang lain. Trombositopenia (jumlah trombosit $\leq 100.000/\text{mm}^3$) merupakan salah satu kriteria laboratoris disamping peningkatan hematokrit $\geq 20\%$ dari kriteria diagnosis DBD menurut WHO. Fase kritis pada umumnya terjadi pada hari sakit ke-3, dimana terjadi penurunan jumlah trombosit sampai $< 100.000/\mu\text{L}$ atau kurang dari 1-2 trombosit/LPB (rata-rata hitung pada 10 LPB) dan terjadi sebelum peningkatan hematokrit dan sebelum terjadi penurunan suhu.

Pada penderita DBD terdapat dua perubahan patofisiologis utama yang terjadi. Pertama adalah peningkatan permeabilitas vascular yang menyebabkan kehilangan plasma dari kompartemen vascular. Perubahan kedua adalah gangguan pada hemostasis yang meliputi perubahan vascular, trombositopenia dan koagulopati. Mekanisme patogenesis terjadinya peningkatan permeabilitas vascular yang tampak pada penderita DBD belum teridentifikasi, sehingga diperlukan studi lebih lanjut. Tetapi diduga bahwa sitokin dan mediator- mediator seperti produk-produk aktivasi komplemen (C3a dan C4a), histamine, *platelet activating factor* (PAF) memiliki peran dalam hal ini.

Perjalanan penyakit DBD sulit diramalkan. Pasien yang pada waktu masuk keadaan umumnya tampak baik, dalam waktu singkat dapat memburuk dan tidak tertolong. Komplikasi infeksi virus dengue yang paling ditakutkan adalah terjadinya perdarahan dan kebocoran plasma penyebab syok. Perdarahan akibat

dari terbentuknya kompleks antigen virus dengan antibodi, selanjutnya kompleks imun tersebut akan mengaktivasi faktor XII menjadi faktor XIIa yang dapat mengaktifkan sistem koagulasi dan fibrinolisis dengan akibat terjadinya perdarahan, dan mengaktifkan sistem kinin dan komplemen dengan akibat peningkatan permeabilitas pembuluh darah sehingga terjadi kebocoran plasma yang ditandai dengan peningkatan hematokrit dan efusi cairan serosa.

Pengobatan DBD pada dasarnya masih bersifat suportif atau simptomatik berdasarkan kelainan utama yang terjadi yaitu berupa perembesan plasma akibat dari meningkatnya permeabilitas vaskuler. Perembesan plasma yang berlangsung selama 24-48 jam akan menyebabkan terjadinya syok, anoksia, asidosis dan kematian. Peningkatan hematokrit 20% atau lebih mencerminkan perembesan plasma dan merupakan indikasi untuk pemberian cairan, cairan awal sebagai pengganti volume plasma dapat diberikan garam isotonik atau ringer laktat. Parasetamol direkomendasikan untuk mempertahankan suhu $< 39^{\circ}\text{C}$. Kriteria memulangkan pasien DBD yang harus rawat inap, diantaranya adalah jika jumlah trombosit telah mencapai $>100.000/\mu\text{L}$, disamping tidak demam selama 24 jam tanpa antipiretik, nafsu makan membaik, secara klinis terjadi perbaikan, hematokrit stabil dan tidak dijumpai distress pernafasan oleh efusi pleura dan asidosis. Belum ada usaha pengobatan yang bersifat kuratif, baik dalam mengatasi terjadinya perdarahan atau trombositopenia maupun dalam mengatasi kebocoran plasma.

Telah dilaporkan oleh Hargono pada tahun 2003 bahwa penggunaan jus buah jambu biji digunakan oleh masyarakat untuk membantu penyembuhan DBD (Hargono, 2003). Namun penggunaan jus buah jambu biji ini tidak dapat

menanggulangi wabah demam berdarah secara optimal karena jumlahnya yang tidak mencukupi dan keberadaannya yang tergantung musim. Studi klinik yang dilakukan oleh Achmad, 2001 dari subbagian Gastroenterologi Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fak. Kedokteran Unibraw/RSUD Dr. Saiful Anwar Malang tentang pengobatan DBD terhadap peningkatan jumlah trombosit yang dilakukan dengan desain paralel, *single blind and simple randomized* menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*) 500 mg per kapsul dengan dosis 3 kali sehari 2 kapsul selama 5 hari mempunyai hubungan yang bermakna secara statistik terhadap pencapaian jumlah trombosit $\geq 100.000 \mu\text{l}$ pada hari ke-5 ($\chi^2 = 8,13 > 3,84$, $\alpha = 0,05$ $df = 1$) dengan efek samping defekasi yang minimal (5,2%). Sedangkan Studi klinik yang telah dilakukan juga oleh Ma'at (tidak dipublikasikan) terhadap relawan pasien DBD dewasa yang diberi ekstrak kering daun jambu biji sebanyak 2 x 500 mg setiap 4-6 jam, terjadi peningkatan jumlah trombosit yang signifikan, dan pencapaian jumlah trombosit $>100.000/\mu\text{L}$ tercapai setelah 12-24 jam, tanpa efek samping yang berarti.

Ekstrak dari daun jambu biji (*Psidium guajava* L) mampu menghambat aktivitas enzim *reverse transcriptase* yang diuji menggunakan *reverse transcriptase* dari virus leukemia Moloney dari mencit dengan indikator pengamatan menggunakan radioisotop $^3\text{H-dTTP}$. Dikatakan ekstrak air (*hot water extract*) mampu menghambat sebesar 81% sedangkan ekstrak metanol sebesar 54%. Pada dosis 125 mikrogram/ml IR (*relative inhibitory ratio*) sebesar 61% (Suthienkul et al, 1993). Disimpulkan bahwa ekstrak daun jambu biji dapat membantu menghambat pertumbuhan virus yang berintikan RNA. Sebelumnya telah diteliti khasiat dari kandungan tannin ekstrak daun jambu biji oleh Kakiuchi

et al (1985). Dibuktikan bahwa tannin dari ekstrak jambu biji (Dimeric Ellagitannin / pedunculagin) dapat menghambat aktivitas enzim *reverse transcriptase* dari virus tumor RNA menggunakan template primer polyadenylic acid-oligothymidylic acid dan bahkan juga dapat menghambat aktivitas enzim *DNA-polymerase* walaupun aktivitasnya lebih rendah, karena DNA dianggap lebih stabil dibandingkan dengan RNA. Pemberian per-oral ekstrak daun jambu biji dapat membantu dalam pengobatan infeksi virus, baik yang berinti RNA, seperti Hepatitis A, hepatitis C, HIV, maupun yang berinti DNA, seperti hepatitis B, Dengue, influenza dll.

Daun jambu biji (*Psidium folium*) berasal dari tanaman *Psidium guajava* L (fam. Myrtaceae) secara tradisional telah lama digunakan sebagai obat diare. Diare yang diinduksi dengan mikrolax pada hewan coba tikus dapat dihambat menggunakan ekstrak daun jambu biji dengan mekanisme kerja sama dengan mekanisme narkotik (*narcotic-like*) (Lutterodt, 1992). Jaiarj et al (1999) membuktikan bahwa daun jambu biji berkhasiat sebagai anti-batuk dan anti-mikrobia. Dikatakan ekstrak daun jambu biji dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan β -*Streptococcus* A dengan LD₅₀ per-oral pada mencit sebesar 5 gram/kg berat badan. Frekuensi batuk yang diinduksi dengan aerosol capsaicin dapat diturunkan dengan pemberian ekstrak secara per-oral sebesar 2 g/kg. Aktivitas antibakteri dari *P. guajava* juga diteliti oleh Rabe et al (1997) yang membuktikan bahwa ekstrak dari daun jambu biji dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri gram positif terutama terhadap *Bacillus subtilis*.

Kandungan asam sitrat dan asam askorbat serta komponen lain yang belum dapat diidentifikasi dalam ekstrak daun jambu biji memiliki efek

antimutagenik yang dapat bekerja secara langsung terhadap mutagen-mutagen 4-nitro-o-phenylenediamine, sodium azide dan S-9 dependent mutagen terhadap strain *Salmonella typhimurium* (Grover et al, 1993).

Dari beberapa literature dapat diketahui kandungan senyawa dalam daun jambu biji adalah senyawa golongan tannin, flavonoid termasuk yang terbesar adalah kuersetin, minyak atsiri, golongan terpenoid, dan senyawa lain yang belum teridentifikasi. Namun dari penelitian pendahuluan dapat diketahui kandungan terbesar dalam daun jambu biji adalah senyawa golongan tannin dan golongan flavonoid khususnya kuersetin. Untuk itu dalam penelitian ini senyawa marker yang digunakan untuk standardisasi ekstrak adalah senyawa tannin total, senyawa flavonoid total dan kuersetin.

Kandungan kuersetin yang ada dalam daun jambu biji mempunyai aktivitas mempengaruhi system imun, antiinflamasi dan juga mampu menghambat aktivitas enzim *reverse transcriptase* dari virus. Menurut Skaper dan Zhang kuersetin mampu menurunkan permeabilitas vascular. Untuk itu daun jambu biji yang mempunyai kandungan kuersetin diharapkan mampu menurunkan permeabilitas vascular, sehingga bisa dijadikan dasar untuk penggunaannya dalam terapi DBD.

Pada penelitian ini, daun jambu biji yang digunakan diekstraksi dengan tiga pelarut yang berbeda yaitu etanol 50%, 70% dan 96%. Hal ini didasarkan pada kandungan senyawa markernya yaitu kuersetin dan tanin. Disamping itu karena daun jambu biji mempunyai kandungan senyawa yang kompleks dengan kelarutan yang berbeda-beda. Untuk itu maka ketiga ekstrak tersebut dilakukan uji kualitatif dan kuantitatif berdasarkan senyawa markernya untuk mengetahui

perbedaan kandungan dari ketiga ekstrak tersebut. Setelah itu ketiga ekstrak tersebut digunakan untuk uji permeabilitas vascular dengan metode induksi asam asetat menggunakan mencit.

2. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

Apakah ekstrak etanol daun jambu biji yang diberikan secara peroral dapat menurunkan permeabilitas vaskuler pada hewan coba ?

3. Tujuan Penelitian

3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun jambu biji dalam menurunkan permeabilitas vascular sebagai parameter kebocoran plasma pada patogenesis demam berdarah dengue.

3.2. Tujuan Khusus

Untuk mengetahui kemampuan ketiga ekstrak etanol daun jambu biji yang diberikan secara peroral dalam menurunkan permeabilitas vascular pada hewan coba

4. Kontribusi Penelitian

Dengan diperolehnya data ilmiah mengenai aktivitas ekstrak etanol daun jambu biji, maka akan dapat dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui bioaktivitasnya yang terkait dengan terapi demam berdarah dengue.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1. Tinjauan tentang Tanaman *Psidium guajava* L.

1.1. Klasifikasi Tanaman (Tjitrosoepomo, 1988)

Divisi	: Spermatophyta
Anak Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Anak Kelas	: Dialypetalae
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Myrtaceae
Marga	: <i>Psidium</i>
Jenis	: <i>Psidium guajava</i> L.

1.2. Nama Daerah

Sumatera : Glima breueh (Aceh), glimeu beru (Gayo), galiman (Batak), masiambu (Nias), biawas, jambu biawas, jambu biji, jambu susu (Melayu). Kalimantan : Libu, nyibu (Dayak Busang). Jawa : Jambu klutuk (Sunda), bayawas, jambu klutuk, jambu krutuk, petokal, tokal (Jawa), jambu bender, jambu bigi (Madura). Nusa Tenggara : Sotong (Bali), guawa (Ende), goihawas (Sika), kejawas, kujawas, kojabas (Timor), kujabas (Roti). Sulawesi : Goyawas (Mendo), dambu (Gorontalo), biabuto (Buol), jambu (Bare), jambu paratugala (Makasar), jambu paratukala (Bugis). Maluku : Kayawase, koyawase (Seram Barat), kojawasu, koyafate, kojawase (Seram Selatan), laine hatu, lutu hatu (Alfur

Ambon), jambu rutuno (Haruku), gawaya (Halmahera Selatan), gawaya, gowaya, bahaiti (Halmahera Utara), gawaya (Ternate).

1.3. Penyebaran dan Tempat Tumbuh

Tanaman *Psidium guajava* L. berasal dari Amerika Tengah. Sekarang telah ditanam secara meluas di Malaysia, India, Srilangka, Vietnam, Indo Pasifik dan merupakan jenis umum yang terdapat di daerah tropik. Di Indonesia dijumpai sampai ketinggian 1200 meter di atas permukaan laut. Pertumbuhannya sangat cepat. Tumbuh di daerah terbuka atau bekas ladang, di semak belukar muda, kadang-kadang terdapat di semak belukar tua atau hutan sekunder. Tanaman berproduksi baik pada berbagai macam tanah, pada ketinggian dibawah 1.000 m diatas permukaan laut.

1.4. Morfologi Tanaman

Semak atau pohon, tinggi 3 m sampai 10 m, permukaan kulit batang halus, berwarna coklat dan mudah mengelupas. Daun berhadapan, bertulang menyirip, berbintik, berbentuk bundar telur agak menjongong atau agak bundar sampai meruncing, panjang helai daun 6 cm sampai 14 cm, lebar 3 cm sampai 6 cm, panjang tangkai 3 mm sampai 7 mm, daun mudanya berambut, daun yang tua permukaan atasnya menjadi licin. Perbungaan terdiri dari 1 sampai 3 bunga, panjang gagang perbungaan 2 cm sampai 4 cm; panjang kelopak 7 mm sampai 10 mm; tajuk berbentuk bundar telur sungsang, panjang 1,5 cm sampai 2 cm. Buah bentuk bulat atau bulat telur, kalau masak berwarna kuning, panjang 5 cm sampai

8,5 cm, berdaging yang menyelimuti biji-biji dalam massa berwarna kuning atau merah jambu.

1.5. Morfologi Simplisia

(1) Makroskopik

Daun : Tunggal, bertangkai pendek, panjang tangkai daun 0,5 cm sampai 1 cm; helai daun berbentuk bundar telur agak menjong atau bulat memanjang, panjang 5 cm sampai 13 cm, lebar 3 cm sampai 6 cm; pinggir daun rata agak menggulung keatas; permukaan atas agak licin, warna hijau kelabu; kelenjar minyak tampak sebagai bintik-bintik berwarna gelap dan bila daun direndam tampak sebagai bintik-bintik yang tembus cahaya; ibu tulang daun dan tulang cabang menonjol pada permukaan bawah, bertulang (berpenulangan) menyirip, warna putih kehijauan.

(2) Mikroskopik

Epidermis atas: Terdiri dari 1 lapis sel, pipih, terentang tangensial, bentuk poligonal, dinding antiklinal lurus, tidak terdapat stomata. Epidermis bawah: Sel lebih kecil, pipih, terentang tangensial, bentuk poligonal, dinding antiklinal lurus. Stomata: Tipe anomositik, banyak terdapat pada permukaan bawah. Rambut penutup: Terdapat pada kedua permukaan, lebih banyak pada permukaan bawah, bentuk kerucut ramping yang umumnya agak bengkok, terdiri dari 1 sel, berdinding tebal, jernih, panjang rambut 150 μm sampai 300 μm , pangkal rambut kadang-kadang agak membengkok, lumen kadang-kadang mengandung zat berwarna kuning kecoklatan. Jaringan air: Terdapat dibawah epidermis atas, terdiri dari 2 sampai 3 sel yang besar, jernih dan tersusun rapat tanpa ruang antar

sel. Idioblas: Terdapat di beberapa tempat, berisi hablur kalsium oksalat berbentuk roset yang besar dan bentuk prisma. Kelenjar minyak: Rongga minyak bentuk lisigen besar, terdapat lebih banyak dibawah dari pada dibagian atas, jaringan palisade: Terdiri dari 5 sampai 6 lapisan sel, terletak dibawah jaringan air, 2 lapis sel yang pertama lebih besar dan mengandung lebih banyak zat hijau daun, lapisan-lapisan berikutnya berongga lebih banyak.

Serbuk: Warna hijau keabu-abuan. Fragmen pengenal banyak terdapat rambut penutup yang terlepas; hablur kalsium oksalat; stomata tipe anomositik; mesofil dengan kelenjar lisigen (Depkes RI, 1977).

1.6. Zat yang Terkandung dalam Tanaman

Bagian tumbuhan jambu biji dapat memiliki khasiat untuk pengobatan, karena masing-masing bagian tumbuhan tersebut mengandung zat-zat kandungan. Dari berbagai penelitian yang telah dilakukan oleh para pakar diketahuilah zat-zat kandungan dalam bagian-bagian tumbuhan jambu biji tersebut, antara lain (Hargono, 2003)

Pada Daun :

Alkohol, aldehida, hidrokarbon alifatik, alkohol aromatik, kadalena, kalsium, karbohidrat, α -kariofilena, β -kariofilena, kasuarinin, klorofil A, klorofil B, sineol, tanin terkondensasi, asam katekolat, asam 2α - 3β -dihidroksi-olean-12-en-28-oat, asam 2α - 3β -dihidroksi-urs-12-en-28-oat, minyak atsiri, galiotanin, 4-gentiobiosida asam elagat, guajaverin, asam guajavolat, guavin A, guavin B, guavin C, guavin D, tanin yang dapat terhidrolisis, asam 2α -hidroksi ursolat, unsur anorganik, isostriktinin, leukosianidin, limonena, D-limonena, DL-

limonena, lutein, asam mastinat, monoterpenoid, neo β -karotena U, nerolidol, asam oleanolat, asam oksalat, pedunculagin, pigmen, kalium, asam psidiolat, kuersetin, sesquiguavaena, sesquiterpenoid, β -sitosterol, stakiurin, striknin, telimagrandin I, triterpenoid, asam ursolat.

Minyak atsiri daun : Aromadendrena, β -bisabolena, kariofilena, kariofelen oksida, longisiklena, nerolidol, selin-11-en-4 α -ol, β -selinena.

Pada Buah :

Asetaldehida etil sis 3-heksenil asetal, aseton, asam anhidroglakturonat, L-arabinose, β -bisabolena, butyl asetat, butiraldehida, δ -kadinena, karbohidrat, karotena, β -kariofilena, klorofil, (E)-asam sinamat, β -kopaena, kurkumena, 1,1-dietoksietana, 1,1-dietoksiheksana, asam 2 α -3 β -dihidroksi olean-12-en-28 oat, asam elagat, etil asetat, etil butirrat, farnesena, lemak dan asam lemak, D-fruktose, D-glukose, heptan-1-al, asam heksahidroksi difenat, heksan-1-al, asam heksanoat, asam (Z)-heksenoat, β -humulena, unsur anorganik, leukoantosianidin, leukosianidin, limonene, lipase, likopena, asam melilotat, metanol, metil etil keton, mirsena, asam nikotinat, nonan-1-al, oktan 1-al, asam oktanoat, minyak, asam oksalat, pectin metilesterase, pigmen, β -pinena, polifenol oksidase, polisakarida, protein, riboflavin, α -selinena, β -sitosterol, sukrose, tanin, tiamina, trans-osimena, valeraldehida, vitamin A, vitamin B, vitamin C, vitamin-vitamin lain, zeatin nukleotida, zeatin ribosida.

Pada Kulit buah : β -bisabolena, γ -kariofilena, asam elagat, (Z)-osimena

Pada Minyak atsiri kulit buah : β -bisabolena, δ -kadinena, kalamenena, kamfena, kariofilena, kariofilen oksida, 1,8-sineol, sis- β -osimena, α -kopaena, ar-

kurkumena, p-simena, hex-1-ol asetat, hex-3-en-1-ol asetat, α -humulena, limonene, murolena, mirsena, β -pinena, α -pinena, α -terpineol.

Pada Buah muda : Arabinose, ester arabinose heksahidrodifenat, kalsium oksalat, β -kariofilena, asam elagat, asam galat, glukose, guajaverin, leukosianidin, maltose, kuersetin

Pada Biji : Protein, Minyak atsiri biji : Sineol

1.7. Kegunaan Tanaman

Sejak jaman dahulu nenek moyang kita telah menjadikan jambu biji sebagai salah satu sumber bahan obat. Hampir seluruh bagian tumbuhan tersebut termasuk buah mudanya memiliki sifat sebagai pengkelat sehingga dapat digunakan sebagai obat diare. Buah masak yang telah dikeringkan digunakan untuk obat disentri. Masyarakat di Cina menggunakan jambu biji sebagai anti inflamasi untuk mengobati gastroenteritis akut atau kronik, disentri, dan gangguan pencernaan anak. Daun segarnya digunakan untuk mengobati luka yang nyeri sekali dan karena bersifat hemostatikum digunakan juga untuk mengatasi perdarahan luka. Di Filipina, rebusan daun yang hangat digunakan untuk membasuh vagina setelah persalinan. Untuk mengobati sakit gigi (gigi berlubang), daun mudanya dikunyah dan dimasukkan kedalam lubang gigi yang sakit. Di Indonesia, digunakan untuk pengobatan diare bahkan ketika terjadi wabah demam berdarah ada yang menggunakan jus buah jambu biji, khususnya buah yang warna daging buahnya merah, untuk membantu penyembuhannya dengan cara meminum berkali-kali. Di semenanjung Malaka beberapa bagian tumbuhan ini digunakan sebagai emenagogum dan waktu melahirkan. Di Jepang, khususnya penduduk di

daerah subtropik menggunakan sediaan anggur daun pucuk atau kulit batang, juga seduhan daun jambu biji muda untuk mengobati diabetes melitus. Rebusan daun *Psidium guajava* L. secara luas digunakan untuk mengobati gusi bengkak, luka di mulut, dan untuk mengurangi nyeri tubuh (Hargono, 2003). Daun segar juga dapat dipakai pada luka akibat kecelakaan, perdarahan akibat benda tajam, borok (ulkus) disekitar tulang (Wijayakusuma, 1994).

2. Tinjauan tentang Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstrak zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995). Mutu ekstrak dipengaruhi oleh bahan asal yaitu tanaman obatnya (Depkes RI, 2000).

Pada prinsipnya cairan pelarut harus memenuhi syarat kefarmasian atau dalam perdagangan dikenal dengan kelompok spesifikasi "*pharmaceutical grade*". Sampai saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air dan alkohol (etanol) serta campurannya. Jenis pelarut ini seperti metanol maupun turunan alkohol lainnya, heksana (hidrokarbon alifatik), toluen (hidrokarbon aromatik), kloroform (dan segolongannya), aseton, umumnya digunakan sebagai pelarut untuk tahap separasi dan tahap pemurnian (fraksinasi). Khusus metanol dihindari penggunaannya karena sifatnya yang toksik akut dan kronik.

Salah satu metode ekstraksi yang banyak dilakukan adalah perkolasi. Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Prosesnya terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1 sampai 5 kali bahan (Depkes RI, 2000).

3. Tinjauan tentang Demam Berdarah Dengue

Penyakit demam dengue (DD) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh virus dengue dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti*. Penyakit ini dapat menyerang semua orang dan dapat mengakibatkan kematian terutama pada anak, serta sering menimbulkan kejadian yang luar biasa atau wabah.

3.1. Karakteristik Wabah Demam Berdarah Dengue

Pola siklus peningkatan penularan bersamaan dengan musim hujan telah teramati di beberapa endemi. Interaksi antara suhu dan turunnya hujan adalah determinan penting dari penularan dengue, karena makin dingin suhu mempengaruhi ketahanan hidup nyamuk dewasa, jadi mempengaruhi laju penularan. Lebih jauh lagi, turunnya hujan dan suhu dapat mempengaruhi pola makan dan reproduksi nyamuk, dan meningkatkan kepadatan populasi nyamuk endemi. Meskipun DBD dapat mempengaruhi orang pada semua usia dalam area endemic dengue, kebanyakan kasus DBD terjadi pada anak-anak dengan usia kurang dari 15 tahun (Asih, 1998).

3.2. Virus Dengue

Demam dengue (DD) dan demam berdarah dengue (DBD) disebabkan virus dengue termasuk group B *Arthropod bornevirus* (arbovirus) (Hadinegoro, 2002). Ada empat jenis virus dengue, yaitu DEN-1, DEN-2, DEN-3 dan DEN-4. Virus tersebut termasuk dalam genus *Flavivirus*, famili Flaviviridae. Infeksi dengan salah satu jenis menimbulkan antibodi seumur hidup terhadap serotipe yang bersangkutan tetapi tidak ada perlindungan terhadap serotipe yang lain. Seseorang yang tinggal didaerah endemis dengue dapat terinfeksi dengan tiga atau empat jenis selama hidupnya (Gubler, 1998). DEN-3 merupakan jenis yang dominan dan banyak berhubungan dengan kasus berat (Hadinegoro, 2002). Virus-virus dengue menunjukkan banyak karakteristik yang sama dengan *Flavivirus* lain, mempunyai genom RNA rantai tunggal yang dikelilingi oleh nukleokapsid ikosahedral dan terbungkus oleh selaput lipid. Virionnya mempunyai diameter kira-kira 50 nm. Genom *Flavivirus* mempunyai panjang kira-kira 11 kb (kilobases) dan urutan genom lengkap dikenal untuk mengisolasi keempat serotipe, mengkode nukleokapsid atau protein inti (c), protein yang berkaitan dengan membran (M), protein pembungkus (E), dan tujuh gen protein non struktural (NS). Domain-domain bertanggung jawab untuk netralisasi, fusi, dan interaksi dengan reseptor virus berhubungan dengan protein pembungkus. Urutan dari pengkodean protein adalah 5'-(pr,MCM)-E-NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5-3'.

3.3. Penularan Virus Dengue

Virus dengue ditularkan ke tubuh manusia melalui gigitan nyamuk *Aedes* yang terinfeksi, terutama *Aedes aegypti*, dan karenanya dianggap sebagai

arbovirus (virus yang ditularkan melalui artropoda). Bila terinfeksi, nyamuk tetap akan terinfeksi sepanjang hidupnya, menularkan virus ke individu rentan selama menggigit dan menghisap darah. Manusia adalah pejamu utama yang dikenai virus. Virus bersirkulasi dalam darah manusia terinfeksi pada kurang lebih waktu dimana mereka mengalami demam, dan nyamuk tak terinfeksi mungkin mendapatkan virus jika mereka menggigit individu saat ia dalam keadaan viremia. Virus kemudian berkembang didalam nyamuk selama periode 8-10 hari sebelum ini dapat ditularkan ke manusia lain selama menggigit atau menghisap darah berikutnya. Lama waktu yang diperlukan untuk inkubasi ekstrinsik ini tergantung pada kondisi lingkungan khususnya suhu sekitar (Asih, 1998).

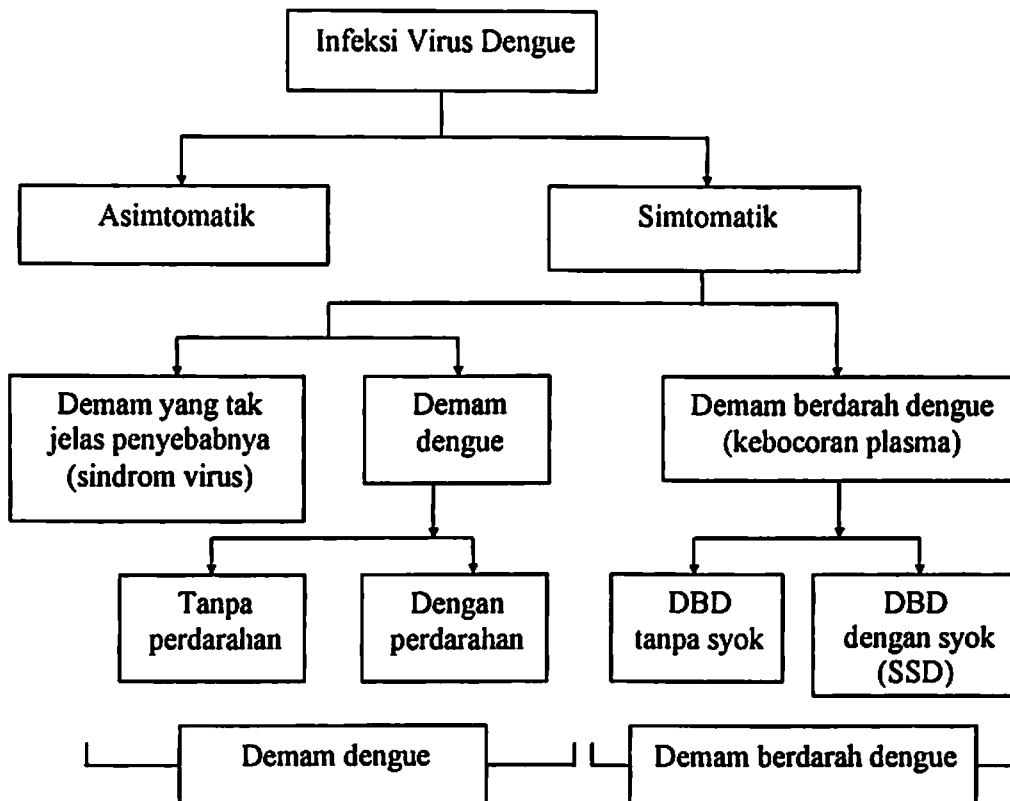
3.4. Manifestasi Penyakit

Sesudah masa tunas/inkubasi selama 3-15 hari orang yang tertular akan mengalami/mengindera penyakit ini dalam salah satu dari 4 bentuk berikut, yaitu:

- (1) **Bentuk abortif**, penderita tidak merasakan suatu gejala apapun.
- (2) **Dengue klasik**, penderita mengalami demam tinggi selama 4-7 hari, nyeri-nyeri pada tulang, diikuti dengan munculnya bintik-bintik atau bercak-bercak perdarahan dibawah kulit.
- (3) **Dengue Haemorrhagic Fever**, gejala sama dengan dengue klasik ditambah dengan perdarahan dari hidung, mulut, dubur dan sebagainya.
- (4) **Dengue Syok Sindrom**, gejalanya sama dengan DBD ditambah dengan syok/presyok, pada bentuk ini sering terjadi kematian.

Karena seringnya terjadi perdarahan dan syok maka pada penyakit ini angka kematiannya cukup tinggi, oleh karena itu setiap penderita yang diduga menderita

penyakit demam berdarah dalam tingkat yang manapun harus segera dibawa ke dokter atau rumah sakit, mengingat sewaktu-waktu dapat mengalami syok/kematian (Sudradjat, 2000). Infeksi virus dengue bisa bersifat asimtomatik atau berupa demam yang tidak jelas, berupa DD sampai DBD dengan kebocoran plasma yang syok, sesuai diagram berikut :



Gambar 2.1 Manifestasi infeksi virus dengue (Asih, 1998)

3.5. Patogenesis

Virus dengue masuk ke dalam tubuh melalui gigitan nyamuk dan infeksi pertama kali mungkin memberi gejala sebagai demam dengue. Reaksi tubuh merupakan reaksi yang biasa tampak pada infeksi oleh virus. Reaksi yang amat

berbeda akan tampak bila seseorang mendapat infeksi berulang dengan tipe virus dengue yang berlainan. Berdasarkan hal ini timbulah yang disebut the *secondary heterologous infection*. Hipotesis ini menyatakan bahwa DBD dapat terjadi bila seseorang setelah terinfeksi virus dengue pertama kali, mendapat infeksi berulang virus dengue lainnya. Infeksi berulang ini akan menyebabkan suatu reaksi anamnestic antibodi, sehingga menimbulkan konsentrasi kompleks antigen dengan antibodi (kompleks virus-antibodi) dalam sirkulasi darah yang tinggi.

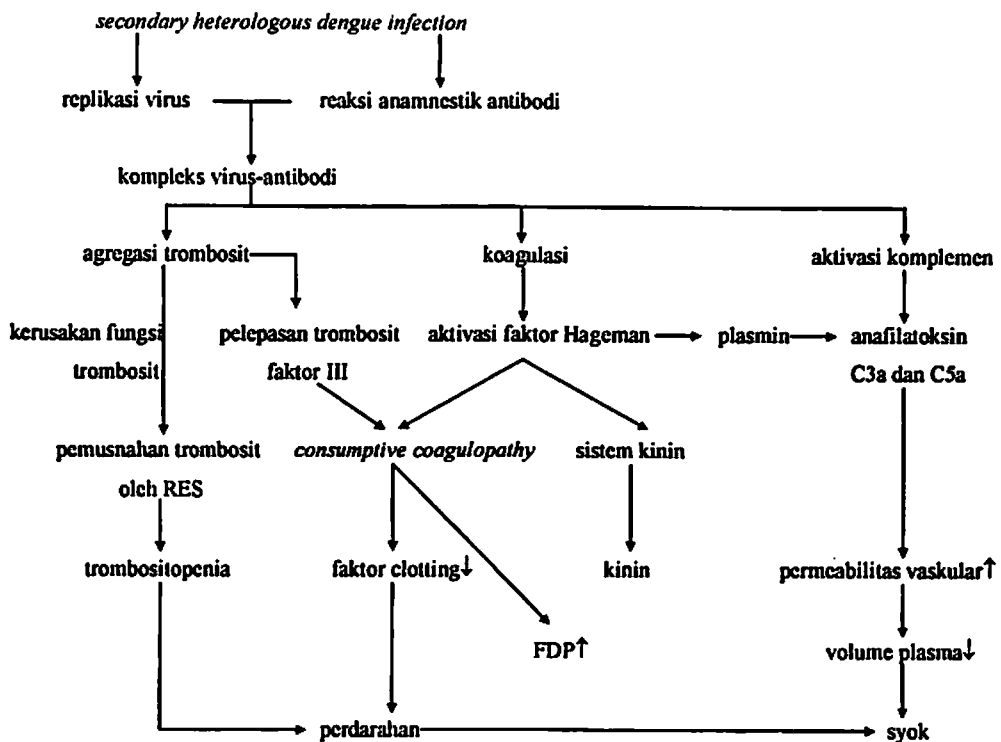
Adanya kompleks virus-antibodi dalam sirkulasi darah mengakibatkan hal sebagai berikut:

- (1) Kompleks virus-antibodi akan mengaktifasi sistem komplemen, yang berakibat dilepaskannya anafilotoksin C3a dan C5a menyebabkan peningkatan permeabilitas dinding pembuluh darah dan hilangnya plasma melalui endotel dinding tersebut, suatu kejadian yang sangat berperan dalam renjatan. Anafilotoksin tersebut sebenarnya secara cepat dapat diinaktivasi dan menghilang dari sirkulasi.
- (2) Timbulnya agregasi trombosit yang melepaskan ADP akan mengalami metamorfosis. Trombosit yang mengalami kerusakan metamorfosis akan dimusnahkan oleh sistem retikuloendotelial yang mengakibatkan trombositopenia hebat dan perdarahan.
Pada keadaan agregasi, trombosit akan melepaskan vasoaktif (histamin dan serotonin) yang bersifat meningkatkan permeabilitas vaskular dan melepaskan trombosit faktor III yang merangsang koagulasi intravaskular.
- (3) Terjadinya aktivasi faktor Hageman (faktor XII) yang berakibat terjadinya pembekuan intravaskular yang meluas. Dalam proses aktivasi ini,

plasminogen akan menjadi plasmin yang berperan dalam pembentukan anafilatoksin dan penghancuran fibrin menjadi *fibrin degradation product*.

Selain itu aktivasi ini akan merangsang sistem kinin yang berperan dalam proses meningkatnya permeabilitas dinding pembuluh darah.

Secara skematis, hipotesis ini ditunjukkan pada gambar dibawah:



Gambar 2.2 Patogenesis perdarahan pada DBD (Hendarwanto, 1999)

3.6. Patofisiologi

Setelah virus dengue masuk kedalam tubuh, pasien akan mengalami keluhan dan gejala karena viremia, seperti demam, sakit kepala, mual, nyeri otot, hiperemia di tenggorokan, timbul ruam dan kelainan yang mungkin terjadi pada

sistem retikuloendotelial seperti pembesaran kelenjar-kelenjar getah bening, hati dan limpa. Ruam pada DBD disebabkan kongesti pembuluh darah dibawah kulit.

Fenomena patofisiologis utama yang menentukan beratnya penyakit adalah peningkatan permeabilitas dinding pembuluh darah yang disebabkan karena pelepasan zat anafilatoksin, histamin, dan serotonin, serta aktivasi sistem kalikrein yang berakibat ekstrasvasi cairan intravaskular. Hal ini mengakibatkan berkurangnya volume plasma, terjadi hipotensi, hemokonsentrasi, hipoproteinemia, efusi, dan renjatan. Plasma merembes selama perjalanan penyakit mulai dari awal demam dan mencapai puncaknya pada saat renjatan. Pada pasien dengan renjatan berat, volume plasma dapat menurun sampai lebih dari 30%.

Adanya kebocoran plasma kedaerah ekstrasvasular dibuktikan dengan ditemukannya cairan dalam rongga serosa, yaitu rongga peritoneum, pleura, dan perikard. Renjatan hipovolemik yang terjadi akibat kehilangan plasma, bila tidak segera diatasi dapat berakibat anoksia jaringan, asidosis metabolik, dan kematian (Hendarwanto, 1999).

Indikator yang peka terhadap terjadinya perembesan plasma adalah peningkatan nilai hematokrit atau hemokonsentrasi yang selalu dapat dijumpai pada penderita DBD. Oleh karena itu perlu dilakukan pemeriksaan hematokrit secara berkala. Hemokonsentrasi dengan peningkatan hematokrit 20% atau lebih (misalnya dari 35% menjadi 42%) mencerminkan peningkatan permeabilitas kapiler dan perembesan plasma (Hadinegoro, 2002).

3.7. Tinjauan tentang Respon Kekebalan Tubuh pada Penderita DBD

Respon kekebalan tubuh pada penderita DBD meliputi respon imun non spesifik dan spesifik, humoral dan seluler. Respon kekebalan ini mengikuti perjalanan penyakit DBD dari gradasi ringan hingga berat.

Pada respon kekebalan tubuh non spesifik penderita DBD yang berperan adalah makrofag, komplemen, dan trombosit. Sedangkan pada respon kekebalan humoral yang berperan adalah IgG dan IgM bekerjasama dengan kekebalan tubuh non spesifik membentuk *antibody dependent cytotoxic cell* (ADCC). Sedangkan pada respon kekebalan seluler yang berperan adalah sel limfosit T-sitotoksik, CD8, MHC1, IL1, IL6, TNF alfa, dan interferon.

(1) Respon Kekebalan Non Spesifik

Pada respon imun non spesifik, setelah terinfeksi virus dengue maka akan terjadi:

1. Aktivasi sistem komplemen C3 sehingga akan menghasilkan C3a dan C5a yang merupakan mediator peningkatan permeabilitas vaskular dan akan terjadi perembesan plasma dari ruang intravaskular ke ekstravaskular (*plasma leakage*).
2. Adanya depresi sumsum tulang yaitu tahap hipovaskular pada hari ke 3-4 demam dan perubahan patologis sistem megakariosit.

(2) Respon Kekebalan Humoral

Bila terjadi infeksi virus dengue, maka setelah 3-4 hari akan timbul IgM, mula mula naik mencapai puncak dan kemudian menurun serta hilang setelah 30-60 hari. Naiknya IgM diikuti oleh IgG, IgM mencapai puncak pada hari kelima belas, kemudian turun perlahan dalam kadar rendah sampai seumur

hidup, itu semua terjadi pada infeksi primer. Infeksi virus dengue untuk yang kedua kalinya akan memicu timbulnya IgG yang akan naik dengan cepat diikuti dengan IgM. Pada respon kekebalan tubuh humoral, maka respon kekebalan tubuh yang tidak spesifik yaitu makrofag dan komplemen akan bekerja bersama-sama dengan IgG atau IgM untuk melisis virus, peristiwa ini disebut ADCC.

Virus mempunyai target serangan yaitu pada sel fagositosis seperti makrofag, monosit, sel Kupfer. Menurut penelitian, antigen dengue lebih banyak didapat pada sel makrofag yang beredar dibanding dengan sel makrofag yang tinggal menetap di jaringan. Pada makrofag yang terinfeksi akan menjadi aktif dan mengeluarkan berbagai substansi inflamasi, sitokin, dan tromboplastin yang mempengaruhi permeabilitas vaskular dan akan mengaktivasi faktor koagulasi.

(3) Respon Kekebalan Seluler

Pada respon kekebalan seluler penderita DBD beberapa komponen sangat besar pengaruhnya diantaranya ialah sitokin. Sitokin diproduksi oleh makrofag mononuklear dan sering disebut monokin. Dalam keadaan normal sitokin tidak terbentuk, sehingga tidak terdapat pada serum. Beberapa mediator yang berperan adalah: interferon, interleukin 1, interleukin 6, Tumor Nekrosis Faktor (TNF), Leukosit Inhibiting Factor (LIF), dan lain-lain. Mediator-mediator tersebut yang bertanggung jawab atas terjadinya demam, syok dan meningkatnya permeabilitas vaskular (Novriani, 2002).

3.8. Tinjauan tentang Pengobatan Demam Berdarah Dengue

Obat dan vaksin pencegah penyakit DBD hingga dewasa ini belum tersedia, maka upaya pemberantasan penyakit tersebut masih dititikberatkan pada pemberantasan nyamuk penularnya (*Aedes aegypti*) disamping kewaspadaan dini terhadap kasus DBD untuk membatasi angka kematian (Suroso, 2002).

Abnormalitas patofisiologis mayor yang terlihat pada DBD adalah peningkatan akut permeabilitas vaskular yang mengarah ke kehilangan plasma dari kompartemen vaskular. Studi menunjukkan penurunan volume plasma lebih dari 20% terjadi pada kasus berat. Rembesan plasma dapat menimbulkan syok yang bila tidak teratasi menimbulkan anoksia jaringan, asidosis metabolik, dan kematian.

Perubahan hemostatik pada DBD mencakup tiga elemen: perubahan vaskular, trombositopenia, dan gangguan koagulasi. Semua pasien menunjukkan peningkatan kerapuhan kapiler.

Penggantian dini dan efektif kehilangan plasma dengan plasma ekspander atau cairan dan larutan elektrolit memberikan hasil yang diharapkan pada kebanyakan kasus. Cairan-cairan yang digunakan untuk penggantian volume cepat mencakup berikut ini:

1. Salin fisiologis
2. Laktat Ringer atau asetat Ringer
3. Larutan glukosa 5% diencerkan 1:2 atau 1:1 dalam salin fisiologis
4. Plasma, substitusi plasma (misalnya dekstran 40) atau albumin 5% (50 g/L).

Tidak menjadi keharusan untuk merawat semua pasien yang diduga terkena DBD di rumah sakit, karena syok hanya terjadi pada sekitar sepertiga pasien.

Temuan penurunan kontinu jumlah trombosit disertai dengan peningkatan hematokrit adalah indikator penting mulainya terjadi syok.

Haus dan dehidrasi terjadi akibat demam tinggi, anoreksia, dan muntah sehingga masukan cairan per-oral harus diberikan. Penggantian larutan elektrolit atau jus buah lebih dipilih dari pada air saja (Asih, 1998).

Apabila terjadi kejadian luar biasa pada DBD, ada beberapa obat yang dapat dipersiapkan, antara lain :

1. Antipiretik, golongan parasetamol
2. Antikonvulsan, fenobarbital dan diazepam
3. Antibiotik, ampisilin atau sefalosporin
4. Kortikosteroid
5. Dopamin
6. Diuretik, furosemid
7. Oksigen

Apabila terjadi kegawatan DBD, obat yang mungkin perlu diberikan saat pemberian cairan adalah bolus epinefrin, sodium bikarbonat, atropin, glukosa dan kalsium klorida, dan saat pasca pemberian cairan stabilitas hemodinamik adalah infus epinefrin, dopamin, dan dobutamin (Hadinegoro, 2002).

4. Tinjauan tentang Permeabilitas Vaskular

Permeabilitas vaskular merupakan kemampuan membran atau dinding pembuluh darah untuk dapat dilewati zat-zat tertentu. Perubahan permeabilitas vaskular adalah salah satu dari berbagai aktivitas biologis yang dapat muncul

terutama pada saat terjadi inflamasi. Peningkatan permeabilitas pembuluh darah dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain:

(1) Komplemen

Komplemen merupakan bagian yang penting untuk melengkapi sistem imun tubuh. Protein-protein sistem komplemen dapat diaktifkan melalui dua jalur yaitu jalur klasik dan jalur alternatif. Protein-protein ini disintesis dalam hepar, tetapi juga disintesis oleh sel-sel sistem limforetikuler seperti limfosit dan monosit. Aktivitas pada jalur alternatif atau jalur klasik menghasilkan produksi beberapa peptida penting yang terlibat dalam respon inflamatoris. Peptida-peptida tersebut berperan sebagai mediator untuk kemotaksin, anafilaksis, vasodilatasi dan sekresi seluler dari sitokin. Anafilotoksin C3a, C4a dan C5a masing-masing diperoleh dari pemecahan C3, C4 dan C5. C3a dan C5a didefinisikan sebagai faktor yang diperoleh dalam serum yang mempunyai aktivitas spasmogenik yang diaktifkan. C4a merupakan anafilotoksin lemah. Baik C3a maupun C5a diketahui merangsang pelepasan histamin dari sel-sel mast dan basofil. Anafilotoksin menyebabkan kontraksi otot polos maupun merangsang terjadinya pelepasan amin-amin atau mediator vasoaktif, yang menyebabkan kenaikan permeabilitas vaskular.

(2) Serotonin (5-Hidroksitriptamin)

Amin vasoaktif ini terdapat dalam sel mast dan pada trombosit. Zat ini juga terdapat di otak dan mukosa lambung. Peran serotonin pada anafilaksis manusia masih merupakan pertanyaan, tetapi mungkin penting pada spesies lain. Meskipun tidak secara langsung merangsang peningkatan permeabilitas vaskular pada kulit kelinci, tetapi serotonin dapat berperan pada penyakit kompleks imun pada

kelinci. Amin vasoaktif ini dapat menyebabkan kenaikan permeabilitas vaskular, dilatasi kapiler, dan kontraksi otot polos. Serotonin merupakan neurotransmitter yang mampu merangsang sel-sel inflamatoris, sel-sel otot polos dan sel saraf.

(3) Histamin

Histamin terdapat dalam banyak jaringan terutama dalam granula sel mast dan basofil. Penelitian baru-baru ini memberikan kesan kemungkinan peran heparin dalam sel mast dalam perbaikan vaskular dan proses regenerasi. Reaksi antigen dengan sel mast yang tersensitisasi dapat menghasilkan pengeluaran granula-granula (degranulasi) dan pelepasan histamin dari sel tersebut. Histamin dibentuk oleh dekarboksilasi histidin, yang disimpan dalam granula sel mast. Sekali dilepaskan, histamin dapat memaksakan beberapa pengaruh farmakologiknya, termasuk kontraksi otot polos, kenaikan permeabilitas vaskular, dan peningkatan sekresi mukus. Namun demikian, pengaruh histamin hanya sementara, karena amin segera dihancurkan dalam plasma dan jaringan oleh histaminase. Ada dua jenis reseptor histamin, yaitu: reseptor H₁ dan reseptor H₂. Bekerja melalui reseptor H₁, histamin meningkatkan kontraksi otot polos, meningkatkan permeabilitas vaskular dan meningkatkan sekresi mukus sel goblet.

(4) Kinin

Kinin adalah peptida basa dengan sifat-sifat vasoaktif yang dihasilkan dalam plasma dan jaringan. Kinin dipecah oleh kalikrein dari suatu prekursor protein plasma tertentu, yaitu kininogen. Kalikrein dapat diaktifkan dalam plasma tetapi juga ada dalam organ seperti pankreas. Kinin menghasilkan bradikinin, suatu non peptida dan lisilbradikinin, suatu deka-peptida. Peptida-peptida ini meningkatkan permeabilitas vaskular dan menurunkan tekanan darah yang menyebabkan

kontraksi otot polos. Pengaruh kinin terhadap peningkatan permeabilitas vaskular masih lebih kecil dibandingkan prostaglandin (PGE_2). Kinin dengan cepat dihancurkan oleh enzim dalam plasma (kininase).

(5) Leukotrin C_4 , D_4 , dan E_4 (Slow-reacting substance of Anaphylaxis SRS-A)

Molekul-molekul ini sekarang dikenal sebagai produk dari lipoksigenase asam arakidonat. Sel-sel leukotrin disintesis dan disekresi oleh beberapa jenis sel, termasuk makrofag, sel mast dan basofil. Penambahan glutation pada molekul prekursor yang tidak stabil, leukimin A_4 , menghasilkan leukotrin C_4 (LTC_4). Zat ini mempunyai aktivitas SRS. Zat-zat tersebut dapat merangsang peningkatan permeabilitas vaskular.

(6) Leukotrin B_4

Berbeda dengan SRS, leukotrin B_4 adalah asam dihidroksieikosatetraenoat. Secara *invivo*, bila disuntikkan ke dalam kulit kelinci, leukotrin B_4 merangsang peningkatan permeabilitas vaskular, tetapi hanya bila PGE_2 juga disuntikkan dan ada neutrofil. Namun, LTB_4 , atau beberapa produk lain yang terkait lipoksigenase arakidonat dapat dilibatkan dalam pelepasan mediator dari basofil (dan neutrofil).

(7) Faktor Pengaktif Trombosit (Platelet Activating Factor = PAF)

PAF diproduksi oleh basofil yang dirangsang oleh IgE ketika terjadi anafilaksis, platelet teraktivasi. Sintesis PAF juga dapat terjadi pada sel-sel inflamasi, seperti sel-sel endotel dan epitel, dan berarti PAF memiliki peran penting yaitu sebagai mediator pada inflamasi akut. Aktivitas biologis yang dapat muncul akibat pelepasan PAF antara lain vasokonstriksi, peningkatan permeabilitas vaskular, bronkokonstriksi.

(8) Prostaglandin (PG)

Prostaglandin dibentuk dari asam arakidonat melalui jalur siklooksigenase. Zat ini tersebar luas di jaringan. Prostaglandin dilepaskan dari jaringan yang sedang mengalami anafilaksis. Prostaglandin tertentu dapat memperkuat kerja beberapa proses alergik dan inflamatoris. Agen-agen anti inflamatoris non steroid, seperti aspirin, indometasin, ibuprofen, menghambat jalur siklooksigenase. PGE₂ merupakan vasodilator kuat, tidak menyebabkan nyeri atau perubahan permeabilitas pembuluh darah, tetapi PGE₂ merangsang kerja dari histamin dan serotonin. Dari keterangan tersebut, berarti PGE₂ mampu meningkatkan permeabilitas pembuluh darah tetapi tidak secara langsung.

(9) Toksin dan senyawa-senyawa tertentu (*physical agent*)

Toksin dan senyawa-senyawa tertentu dapat menyebabkan nekrosis endotel pembuluh darah sehingga terjadi peningkatan pada permeabilitasnya.

Permeabilitas pembuluh darah juga dapat diturunkan atau dinormalkan antara lain dengan :

(1) Histamin

Ada dua jenis reseptor histamin yaitu reseptor H₁ dan reseptor H₂. Meskipun histamin yang bekerja di reseptor H₁ mampu meningkatkan permeabilitas pembuluh darah tetapi kerja ini dapat dihambat oleh reseptor H₂. Interaksi histamin melalui reseptor H₂ memberikan umpan balik (*feed back*) terhadap reseptor H₁.

(2) Obat-obat yang menghambat jalur siklooksigenase

Seperti telah diuraikan diatas, aspirin, indometasin, ibuprofen, mampu menghambat jalur siklooksigenase sehingga prostaglandin tidak terbentuk/

dihambat dan ini menyebabkan penurunan permeabilitas vaskular (Bellanti, 1985 ; Sigal, 1994).

4.1. Metode Pengujian Permeabilitas Vaskular

Uji permeabilitas vaskular dilakukan dengan induksi asam asetat. Hewan coba (mencit jantan) dengan berat 20-25 gram dipuasakan selama 2 jam sebelum uji dilakukan. Tetapi selama puasa, hewan tersebut akan tetap diberi air minum *ad libitum*. Empat persen larutan Pontamine Sky Blue dalam saline diinjeksi intravena melalui vena ekor 40 menit setelah pemberian per-oral larutan uji.

Setelah 20 menit, 1% larutan asam asetat dalam saline (v/v) diinjeksi intraperitoneal dan setelah 20 menit, mencit dibunuh dengan dislokasi leher kemudian dinding abdominal dipotong untuk melihat entrail. Setelah mencuci entrail dengan saline, larutan cucian disaring dengan glasswool dan dikumpulkan dalam wadah (*test tube*). Untuk membersihkan pengotor, yaitu protein, 0,1 mL larutan NaOH 1N ditambahkan kedalam tiap wadah kemudian diukur absorbannya pada 590 nm menggunakan spektrofotometer (model 200-10, Hitachi). Permeabilitas vaskular ditunjukkan dalam jumlah per dye ($\mu\text{g}/\text{mencit}$) (Ozaki, 1989).

4.2. Tinjauan tentang Indometasin

Merupakan derivat indol-asam asetat. Obat ini sudah dikenal sejak 1963 untuk pengobatan arthritis rheumatoid dan sejenisnya. Walaupun obat ini efektif tetapi karena toksik maka penggunaan obat ini dibatasi. Indometasin memiliki efek anti inflamasi dan analgesik-antipiretik yang kira-kira sebanding dengan

aspirin. Telah terbukti indometasin memiliki efek analgesik perifer maupun sentral. Invitro, indometasin menghambat enzim siklooksigenase. Seperti halnya kolkisin, indometasin juga menghambat mobilitas leukosit polimorfonuklear. Absorpsi indometasin setelah pemberian per-oral cukup baik, 92-99% indometasin terikat pada protein plasma. Metabolismenya terjadi di hati dan diekskresi dalam bentuk asal maupun metabolit melalui urine dan empedu. Waktu paruh plasma kira-kira 2-4 jam.

Efek samping indometasin tergantung dosis insidennya cukup tinggi. Pada dosis terapi, sepertiga penderita menghentikan pengobatan karena efek samping. Efek samping saluran cerna berupa nyeri abdomen, diare, perdarahan lambung dan pankreatitis. Sakit kepala hebat dialami oleh kira-kira 20-25 % penderita dan sering disertai pusing, depresi dan rasa bingung, halusinasi dan psikosis, pernah dilaporkan indometasin juga dilaporkan menyebabkan agranulositosis, anemia aplastik dan trombositopenia. Vasokonstriksi pembuluh koroner pernah dilaporkan. Hiperkalemia dapat terjadi akibat hambatan yang kuat terhadap biosintesis PG di ginjal. Alergi dapat pula timbul dengan manifestasi urtikaria, gatal dan serangan asma. Obat ini mengurangi efek koroner pernah dilaporkan. Hiperkalemia dapat terjadi akibat hambatan yang kuat terhadap biosintesis PG di ginjal. Alergi dapat pula timbul dengan manifestasi urtikaria, gatal dan serangan asma. Obat ini mengurangi efek natriuretik dari diuretik tiazid dan furosemid serta memperlemah efek hipotensif obat beta bloker.

Karena toksisitasnya, indometasin tidak dianjurkan diberikan kepada anak, wanita hamil, penderita gangguan psikiatris dan penderita penyakit lambung. Penggunaannya kini hanya dianjurkan bila AINS lain kurang berhasil misalnya

pada spondilitis ankilosa akut, dan osteoarthritis berefek urikosurik. Dosis indometasin yang lazim ialah 2-4 kali 25 mg sehari. Untuk mengurangi gejala rematik di malam hari, indometasin diberi 50-100 mg sebelum tidur (Wilmana, 1995).

4.3. Tinjauan tentang Kuersetin

Kuersetin merupakan golongan flavonoid yang termasuk dalam kelas flavonol. Kuersetin terdistribusi di banyak tanaman misalnya bawang, anggur merah, teh hijau, apel, dan tanaman obat seperti *Ginko biloba*, *Hyspe*, *Ricam perjoralum* (St. John's Wort), *Sambucus canadensis* (Anonim, 2001).

Kuersetin dikenal dengan nama kimia sebagai 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-1-benzopyran-4-one dan 3,3',4',7-pentahidroxy flavone. Kuersetin juga dikenal dengan meletin, sophretin, dan cyanidenolon dengan rumus molekul $C_{15}H_{10}O_7$ dan berat molekul 302,2. Berbentuk serbuk berwarna kuning yang bersifat higroskopis. Satu gram kuersetin larut dalam 290 mL alkohol dan dalam 23 mL alkohol mendidih. Larut dalam asetat glasial, larutan basa dengan warna kuning, dan praktis tidak larut dalam air (Budavari, 1996).

Kuersetin mempunyai efek antioksidan dan prooksidan (Choi, 2003), dapat melindungi kerusakan membran pada eritrosit karena merokok (Begum, 2002), mempunyai efek antidiare dengan menghambat pergerakan usus dan menurunkan permeabilitas vaskular dalam rongga perut (Skaper, 1997; Zhang, 2003), antiinflamasi (Nicolau, 2003), antialergi (Guilliam, 1998), mempunyai efek antivirus dengan menghambat enzim *reverse transcriptase* dari HIV dan Retrovirus lain. Kuersetin juga menghambat pelepasan histamin pada sel mast dan

basofil, immunomodulator, antikanker, anti ulcer/gastroprotektif mencegah penyakit kardiovaskular, dan mencegah komplikasi sekunder dari diabetes melitus (Anonim, 2001). Kuersetin menghambat jalur lipooksigenase dari asam arakidonat yang menginduksi peningkatan permeabilitas vaskular (Anonim, 2004).

BAB III

METODE PENELITIAN

1. Bahan Penelitian

1.1. Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah ekstrak etanol 50%, 70 % dan 96% daun jambu biji.

1.2. Hewan Coba

Untuk uji permeabilitas vaskular digunakan mencit putih (*Mus musculus*), strain BALB/c, jenis kelamin jantan dengan berat badan 20-25 gram, yang diperoleh dari Pusat Veterenaria Farma (PUSVETMA) Surabaya. Mencit diadaptasikan dengan lingkungan laboratorium selama 1 minggu, diberi makan standart.

1.3. Bahan Kimia

Etanol 96%, Aquadest, Larutan NaCl 0,9% (saline), Larutan Trypan Blue 4% (w/v) dalam saline, Larutan CMC Na 0,5%, Indometasin, Asam galat, Kuersetin, Larutan asam asetat 1% (v/v) dalam saline, Eter

1.4. Alat-alat

Gelas ukur, Labu ukur, Tabung reaksi dan rak tabung, Lempeng kromatografi, Camag TLC-scanner 3, Spet plastik dan jarum, Gunting bedah, Pinset, Spektrofotometer Double Wavelength-Double Beam Hitachi 557

2. Prosedur Kerja

2.1. Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi-perkolasi dengan menggunakan etanol 50%, etanol 70% dan etanol 96% dengan cara kerja sebagai berikut :

Serbuk simplisia sebanyak 500 g dibasahi dengan pelarutnya (untuk ekstrak 50% dengan alkohol 50%, untuk ekstrak 70% dengan alkohol 70% dan untuk ekstrak 96% dengan alkohol 96%). Selanjutnya serbuk simplisia yang sudah terbasahi secara keseluruhan dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam perkolator sambil tiap kali ditekan dengan hati-hati dan dituangi dengan pelarutnya secukupnya sampai cairan mulai menetes dan di atas simplisia masih ada kira-kira 3 – 5 cm pelarut. Perkolator ditutup rapat, dibiarkan selama 24 jam kemudian ditetaskan dengan kecepatan 1 ml/menit. Setiap hari filtrat ditampung sekitar 500 ml. Filtrat dikumpulkan setelah dilakukan beberapa kali penampungan dan penambahan pelarut yang selalu baru tiap kali selesai menampung filtrat. Proses perkolasi dihentikan setelah jumlah filtrat kurang lebih 5 L. Selanjutnya filtrat yang terkumpul dipekatkan dengan rotavapor hingga didapat ekstrak kental dengan volume 1/10 dari volume ekstrak mula-mula. Selanjutnya ekstrak dikeringkan dengan penambahan Cab – O – Sil sebanyak 20 g. Hasil pengeringan ekstrak tersebut selanjutnya disebut Bulk dan digunakan untuk tahapan selanjutnya.

2.2. Uji Kualitatif Senyawa dalam Ekstrak

Uji kualitatif senyawa dalam ekstrak dilakukan dengan metode KLT-Densitometri. Fase diam yang digunakan adalah silika gel F 254, sedangkan fase geraknya adalah kloroform : aseton : asam formiat dengan perbandingan 15 : 3,3 : 2,5. Sampel dan larutan standar kuersetin ditotolkan dalam satu lempeng KLT, kemudian dieluasi dengan fase gerak. Setelah itu diamati dan dibandingkan nilai Rf dan profil kromatogram antara analit sampel dengan standar kuersetin.

2.3. Penetapan Kadar Kuersetin

Untuk mengetahui kadar kuersetin dalam masing-masing ekstrak, dilakukan penetapan kadar secara KLT-Densitometri. Sebelum dianalisis, sampel dihidrolisis terlebih dahulu dengan cara 250,0 mg sampel (bulk ekstrak etanol 70% daun jambu biji) ditambah 21 ml metanol dan 0,6 ml HCl 25%, kemudian dihidrolisis selama 30 menit pada suhu 70°C. Hasil hidrolisis ini ditambah metanol sampai volume tepat 25,0 ml.

Sampel yang telah dihidrolisis tersebut ditotolkan pada lempeng KLT sebanyak 10 µl bersama larutan standar kuersetin dengan berbagai konsentrasi (500, 750, 1000, 1250, 1500, dan 1750 bpj) masing-masing sebanyak 2 µl. selanjutnya lempeng KLT tersebut dieluasi dengan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 1,7) dan dianalisis dengan KLT-Densitometer pada panjang gelombang 375 nm untuk mengukur area noda.

2.4. Penentuan Dosis

Berdasarkan studi klinis yang telah dilakukan Achmad, 2001, pada pasien demam berdarah dengue di RSUD Dr. Syaiful Anwar Malang, maka dosis yang digunakan ekstrak yang mengandung 5,31 mg kuersetin per 50 kg berat badan manusia, kemudian dosis ini dikorelasikan terhadap mencit.

2.5. Penyediaan Sediaan Uji

Masing-masing ekstrak yang mengandung kuersetin 5,31 mg disuspensikan ke dalam CMC Na 0,5% sehingga volume pemberian per oral adalah 0,5 mL / 20 g berat badan mencit.

2.6. Perlakuan pada Hewan Coba

Sebelum digunakan, hewan coba dipuasakan terlebih dahulu selama 2 jam. Hewan coba dikelompokkan menjadi enam kelompok masing-masing terdiri 8 ekor mencit, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif I, kelompok kontrol positif II, kelompok kontrol positif III, kelompok ekstrak etanol 50%, kelompok ekstrak etanol 70% dan kelompok ekstrak etanol 96%.

- (1) Kelompok kontrol negatif, diberi suspensi cab-O-sil dalam CMC Na 0,5%.
- (2) Kelompok kontrol positif I, diberi suspensi indometasin.
- (3) Kelompok kontrol positif II, diberi suspensi kuersetin.
- (4) Kelompok kontrol positif III, diberi suspensi asam galat
- (5) Kelompok dosis I, diberi suspensi ekstrak etanol 50% daun jambu biji yang mengandung 5,31 mg kuersetin / 20 g berat badan mencit

- (6) Kelompok dosis II, ekstrak etanol 70% daun jambu biji yang mengandung 5,31 mg kuersetin / 20 g berat badan mencit.
- (7) Kelompok dosis III, ekstrak etanol 96% daun jambu biji yang mengandung 5,31 mg kuersetin / 20 g berat badan mencit.

2.7. Uji Permeabilitas Vaskular yang Diinduksi dengan Asam Asetat

(1) Prinsip Pengujian

Mengukur intensitas warna dari cairan rongga perut yang telah dicuci dengan saline setelah diberi sediaan uji, diinjeksi dengan larutan Trypan Blue, dan asam asetat.

(2) Kriteria Hasil

$$\% \text{ penurunan permeabilitas} = [(a - b) / a] \times 100\%$$

Dimana : a = rata-rata kadar Trypan Blue ($\mu\text{g}/5\text{mL}$) kelompok kontrol negatif

b = rata-rata kadar Trypan Blue ($\mu\text{g}/5\text{mL}$) kelompok uji

Semakin jernih warna dari cairan rongga perut (menyamai obat pembanding) semakin baik efek permeabilitas vaskularnya.

(3) Cara Kerja

1. Mencit jantan dipuasakan 2 jam sebelum pengujian, air minum tetap diberikan.
2. Pada waktu pengujian, ditimbang bobotnya (20-25 gram) dan dikelompokkan secara acak.

3. Masing-masing kelompok diberi perlakuan seperti dijelaskan pada 2.6.
4. Setelah 40 menit, hewan coba diinjeksi intravena melalui vena ekor dengan 4% larutan Trypan Blue dalam saline.
5. Setelah 30 menit, hewan coba diinjeksi intraperitoneal dengan 1% larutan asam asetat dalam saline.
6. Setelah 20 menit, mencit dibunuh menggunakan eter, kemudian dinding perut dilubangi.
7. Rongga perut dicuci dengan 5 mL saline, cucian tersebut ditampung dalam wadah dan disentrifugasi, kemudian supernatannya dipisahkan
8. Absorbansi dari supernatan diukur pada λ 583 nm (Spektrofotometer model 557, Hitachi Double Wavelength-Double Beam).

3. Analisis Hasil

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *Anova Completely Randomized Design* (*Anova CRD*)/*Anova One Way* pada tingkat kepercayaan 95%. Dari hasil perhitungan, apabila didapatkan F hitung lebih besar dari F tabel atau signifikansi kurang dari 0,05 maka menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan. Perhitungan dilanjutkan dengan uji *Honestly Significant Difference* (HSD) untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan efek antar pasangan kelompok perlakuan (Daniel, 1983).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak dibuat dengan metode perkolasi menggunakan pelarut etanol 96%, 70%, dan 50%. Hasil tampungan kemudian dipekatkan dengan rotavapor dan dikeringkan dengan menambahkan cab-o-sil. Hasil pembuatan ekstrak adalah sebagai berikut :

Tabel 4.1. Hasil pembuatan ekstrak etanol 96%, 70% dan 50% dengan metode maserasi-perkolasi

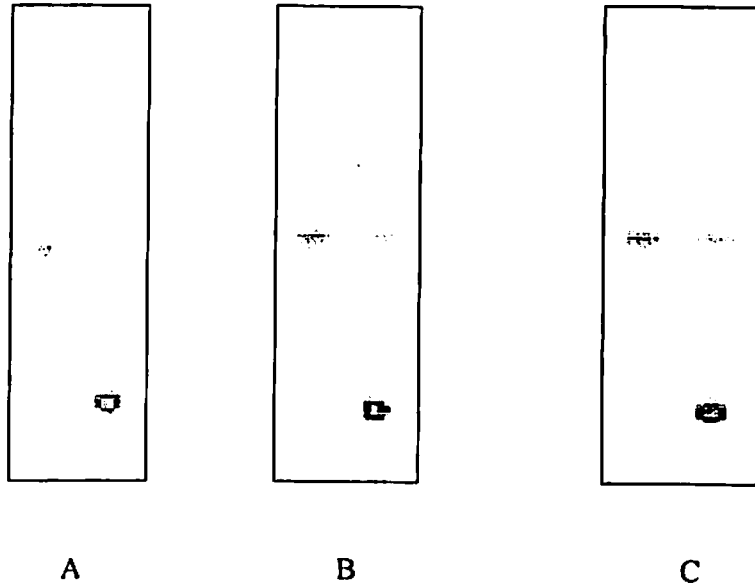
Ekstrak Etanol	Berat serbuk daun (kg)	Volume pelarut total (ml)	Penambahan Cab-o-Sil (g)	Bulk ekstrak (g)	Ekstrak kering (g)
Etanol 96%	0,5	5	10	83,8982	73,8982
Etanol 70%	0,5	5	20	118,6756	98,6756
Etanol 50%	0,5	5	20	126,4937	106,4937

Ketiga ekstrak tersebut kemudian diuji kualitatif menggunakan kromatografi lapis tipis dengan membandingkan nilai Rf dari standar dan sampel dan pemberian pereaksi penampak noda $AlCl_3$ 5% dalam metanol. Pengamatan noda dengan menggunakan perbandingan Rf dan pereaksi penampak noda adalah sebagai berikut :

Tabel 4.2 Hasil pengamatan noda pada lempeng kromatografi lapis tipis

Ekstrak	Rf standar	Rf sampel	Warna bercak dengan penampak noda dilihat pada lampu UV 365 nm
Etanol 96%	0,41	0,41	Kuning berfluoresensi
Etanol 70%	0,40	0,40	Kuning berfluoresensi
Etanol 50%	0,40	0,40	Kuning berfluoresensi

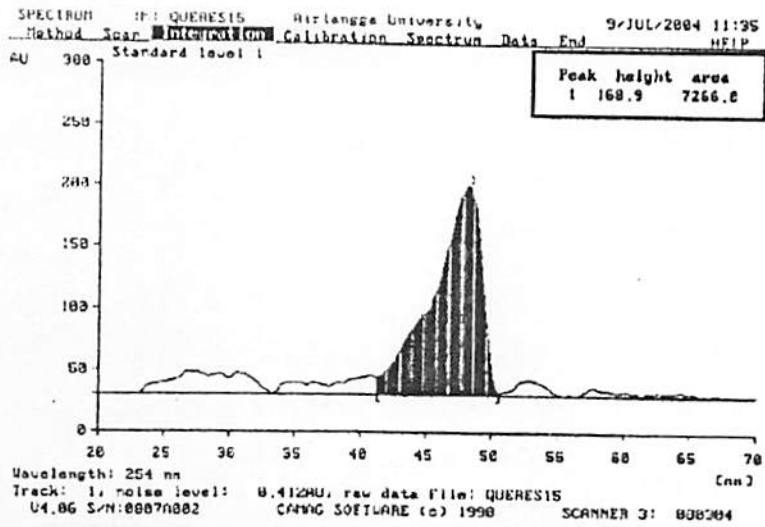
Sedangkan noda-noda senyawa dari masing-masing ekstrak yang terdapat pada lempeng kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada gambar berikut :



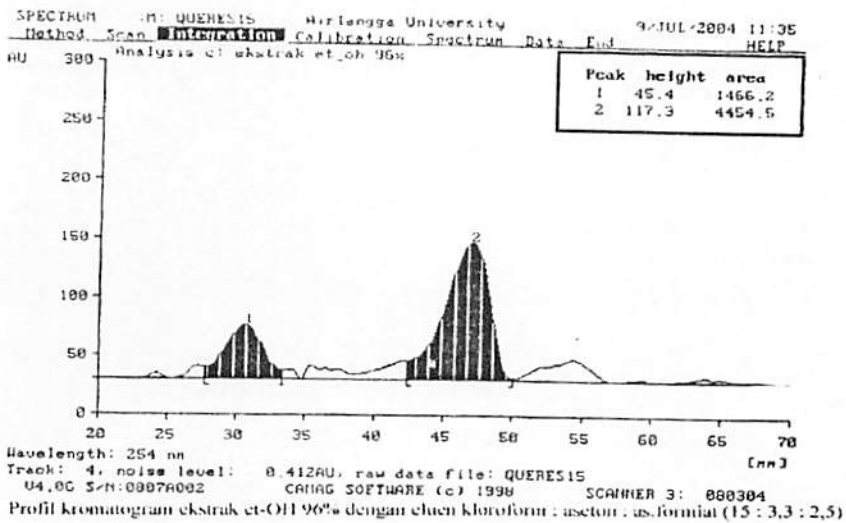
Gambar 4.1 Lempeng KLT yang telah dieluasi dari standar dan masing-masing ekstrak

- Keterangan gambar : A. Standar dan ekstrak etanol 96%
B. Standar dan ekstrak etanol 70%
C. Standar dan ekstrak etanol 50%

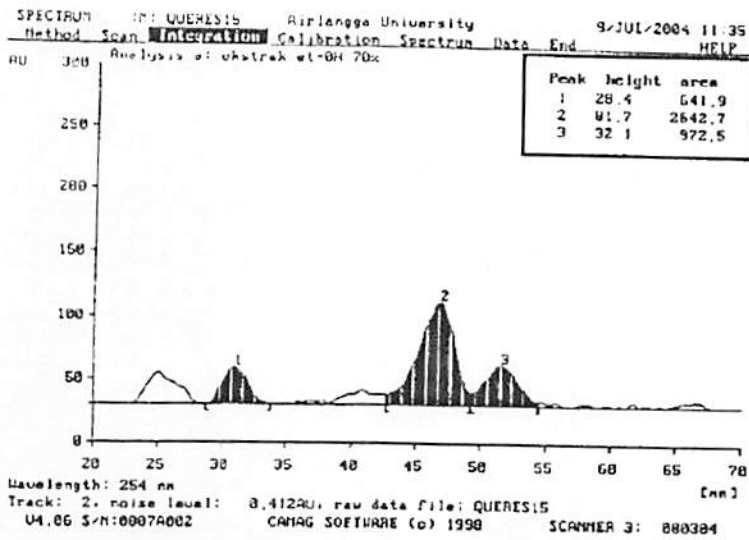
Dari hasil kromatografi lapis tipis dapat diketahui bahwa harga R_f dan warna noda standar kuersetin sama dengan harga R_f dan warna noda pada ketiga ekstrak. Kemudian lempeng hasil KLT standar kuersetin dan sampel dengan fase diam silika gel F 254 , fase gerak kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 2,5) tersebut, kemudian dipayar dengan densitometer pada λ 254 nm dan 360 nm sehingga diperoleh profil kromatogram yang dapat dilihat pada gambar dibawah ini:



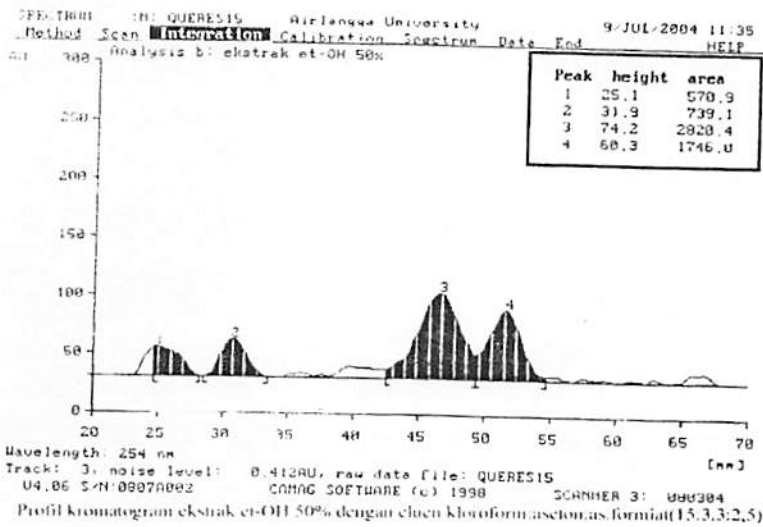
Gambar 4.2 Profil kromatogram standar kuersetin pada λ 254 nm dengan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 2,5)



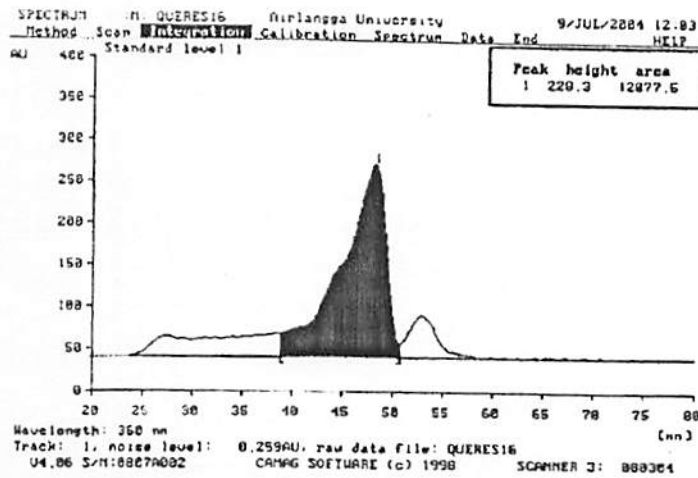
Gambar 4.3 Profil kromatogram ekstrak etanol 96% pada λ 254 nm dengan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 2,5)



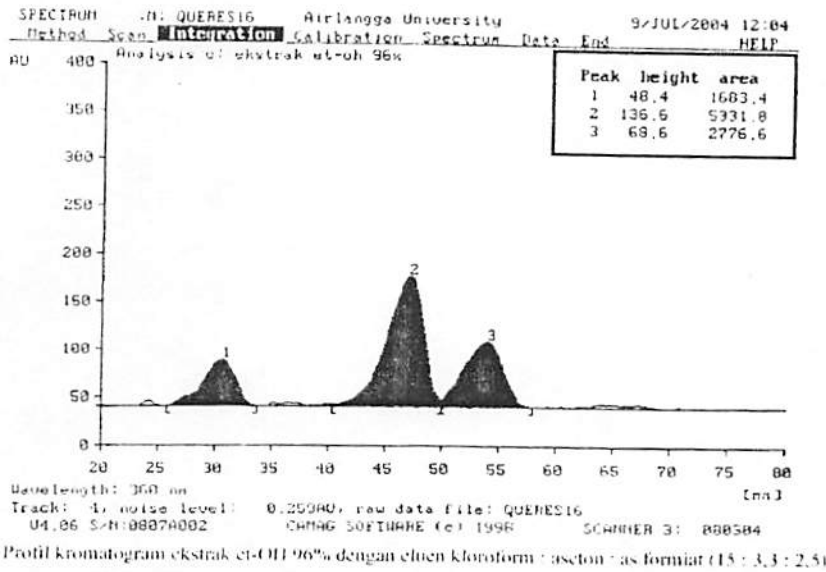
Gambar 4.4 Profil kromatogram ekstrak etanol 70% pada λ 254 nm dengan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 2,5)



Gambar 4.5 Profil kromatogram ekstrak etanol 50% pada λ 254 nm dengan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 2,5)

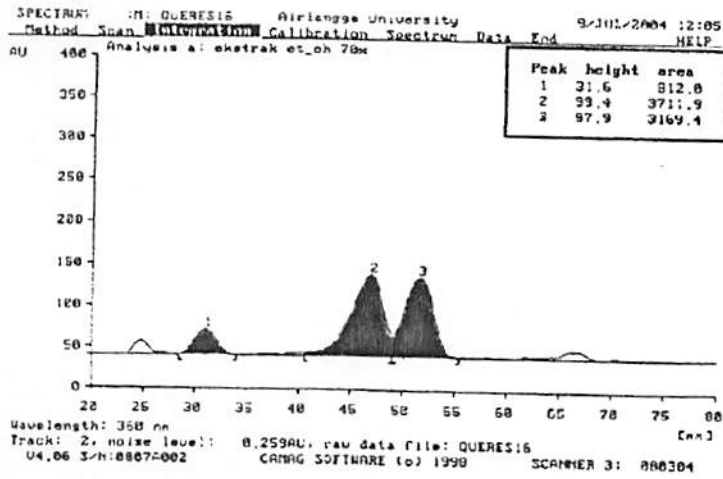


Gambar 4.6 Profil kromatogram standar kueretin pada λ 360 nm dengan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 2,5)

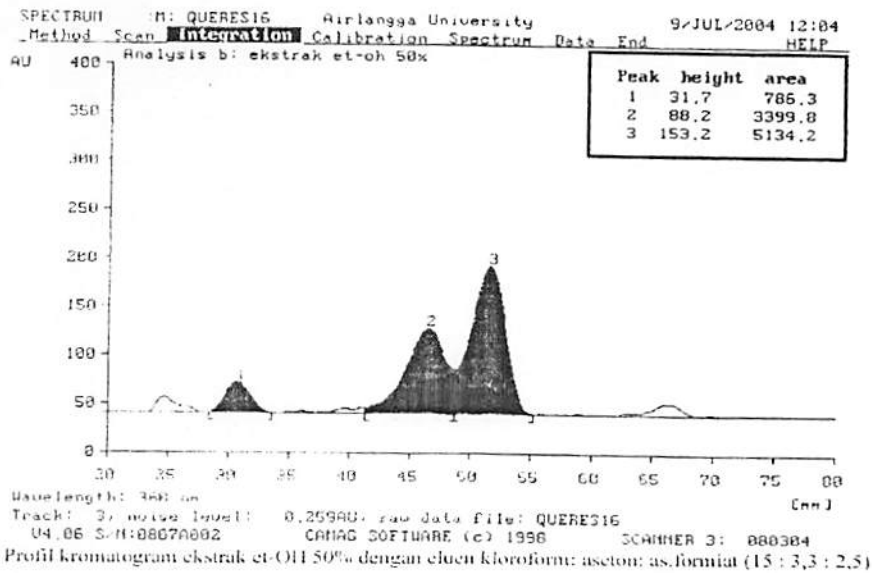


Profil kromatogram ekstrak et-oh 96% dengan eluen kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 2,5)

Gambar 4.7 Profil kromatogram ekstrak 96% pada λ 360 nm dengan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 2,5)



Gambar 4.8 Profil kromatogram ekstrak 70% pada λ 360 nm dengan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 2,5)



Gambar 5.9 Profil kromatogram ekstrak 50% pada λ 360 nm dengan fase gerak kloroform : aseton : asam formiat (15 : 3,3 : 2,5)

Dari profil kromatogram diatas dapat dilihat bahwa jarak puncak standar kuersetin sama dengan puncak yang terdapat pada profil masing-masing ekstrak, sehingga secara kualitatif dapat diketahui bahwa ketiga ekstrak mengandung senyawa marker kuersetin namun dari pola kromatogram dapat diketahui bahwa ketiga ekstrak mempunyai senyawa lain yang berbeda. Hal ini dapat dilihat adanya puncak-puncak lain yang berbeda. Dapat terlihat pula pada puncak-puncak yang mempunyai jarak yang sama mempunyai tinggi puncak yang berbeda. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pada senyawa yang sama, kadarnya tidak sama.

Untuk mengetahui kadar senyawa marker yaitu kuersetin dilakukan penetapan kadar kuersetin dengan metode KLT-densitometri. Preparasi sample dilakukan dengan cara hidrolisis asam untuk memecah ikatan gula dengan aglikon, karena kuersetin merupakan aglikon flavonoid. Hasil hidrolisis kemudian ditotolkan pada lempeng kromatografi dan dieluasi dengan fase gerak yang selektif yaitu kloroform : aseton : asam formiat (150-33-17) dan dipayar dengan densitometer pada panjang gelombang 375 nm.

Dari hasil penetapan kadar kuersetin pada ketiga ekstrak etanol daun jambu biji (bulk) tersebut kemudian dilakukan perhitungan dosis untuk mencit dengan nilai konversi 0,0036 (dari manusia 50 kg ke mencit 20 g). Perhitungan dosis ini didasarkan pada penelitian studi klinik sebelumnya bahwa ekstrak yang mengandung kuersetin 5,31 mg mampu meningkatkan jumlah trombosit pada pasien demam berdarah dengue. Hasil perhitungan dosis untuk mencit dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 4.3 Perhitungan dosis masing-masing ekstrak etanol daun jambu biji

No.	Sampel	Kadar kuersetin	Dosis ekstrak untuk mencit
1.	ekstrak etanol 50%	2,009 %	0,952 mg / 20 g mencit
2.	ekstrak etanol 70%	2,46 %	0,777 mg / 20 g mencit
3.	ekstrak etanol 96%	2,577 %	0,742 mg / 20 g mencit

Setelah diketahui dosis yang digunakan untuk mencit, maka dilanjutkan dengan uji bioaktivitas permeabilitas vascular dari ketiga ekstrak tersebut. Bahan uji untuk kontrol positif yang digunakan adalah indometasin dan kuersetin. Digunakan indometasin karena pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Wiyoto, 1999, indometasin mampu menurunkan permeabilitas vaskular secara berbeda bermakna dengan kontrol negatif, selain itu pada penelitian ini indometasin digunakan sebagai pembanding yang mewakili produk obat yang sudah beredar. Sedangkan kuersetin digunakan sebagai kontrol positif kedua, selain karena kuersetin mempunyai aktivitas menurunkan permeabilitas vaskular (Skaper, 1997; Zhang, 2003) juga untuk mengetahui bagaimana perbedaan aktivitas penurunan permeabilitas vaskular dari kuersetin yang berada dalam ekstrak etanol daun jambu biji dengan kuersetin dalam bentuk sediaan tunggal. Sedangkan kontrol positif ketiga digunakan asam galat karena dari penelitian sebelumnya merupakan senyawa mayor yang terdapat pada daun jambu biji.

Pada metode uji permeabilitas vascular ini, digunakan asam asetat 1% melalui intraperitoneal untuk menginduksi peningkatan permeabilitas vaskular pada hewan coba. Karena terjadi peningkatan permeabilitas vaskular maka cairan plasma akan keluar dari pembuluh darah termasuk juga zat warna Trypan Blue

yang terlarut dalam cairan plasma. Trypan Blue akan keluar ke rongga peritoneal karena permeabilitas pembuluh darah pada dinding peritoneal meningkat.

Penurunan permeabilitas vaskular dari bahan uji dinilai dari kemampuannya menahan cairan zat warna Trypan Blue yang disuntikkan melalui vena ekor setelah adanya induksi dari asam asetat 1%. Setelah mencit dibunuh dan rongga perutnya dicuci dengan 5 mL saline, kemudian cucian tersebut ditampung dalam dalam tabung reaksi dan disentrifugasi selama 10 menit, supernatnya dipisahkan lalu diukur absorbansi dari supernatant tersebut. Pada penelitian ini, tidak dilakukan penambahan 0,1 mL NaOH 1N seperti pada literatur (Ozaky, 1989) karena penambahan NaOH menyebabkan zat warna ikut mengendap setelah disentrifugasi. Sebenarnya penambahan NaOH ini bertujuan untuk menghilangkan pengotor-pengotor dalam cucian entrail misal protein, akan tetapi hal ini dapat diatasi dengan membuat blanko (cairan rongga perut hasil perlakuan yang sama dengan kelompok uji, tanpa pemberian Trypan Blue melalui vena ekor) yang juga tidak ditambah dengan NaOH.

Dari kurva baku yang telah diperoleh dimana "x" adalah kadar dan "y" adalah absorban maka didapat hasil yaitu:

Tabel 4.4 Hasil uji permeabilitas vaskular dengan metode induksi asam asetat

Mencit	Kadar Trypan Blue dalam entrail ($\mu\text{g}/5\text{mL}$)						
	Kelompok						
	Kontrol negatif	Indomet	Kuersetin	As galat	Ext. 96%	Ext. 70%	Ext. 50%
1	51,667	18,072	28,001	14,525	25,008	30,833	42,940
2	64,082	23,754	28,181	15,315	24,078	31,000	46,011
3	59,405	17,084	28,788	15,515	21,679	31,726	50,708
4	59,700	13,749	33,670	21,805	23,211	32,160	51,211
5	78,600	15,107	36,687	27,180	21,821	31,660	54,430
6	45,055	15,478	39,200	28,425	28,062	31,611	56,899
7	53,435	19,925	45,311	32,205	31,204	28,757	57,289
8	64,500	24,371	45,239	25,890	31,705	30,000	57,566
X	59,556	18,443	35,635	25,846	25,846	30,968	52,132
SD	10,125	3,955	7,214	4,005	4,005	1,117	5,464

Keterangan :

- I = Kelompok mencit yang diberi suspensi cab-O-sil dalam 0,5% CMC Na (kelompok kontrol negatif).
- II = Kelompok mencit yang diberi suspensi indometasin (dalam 0,5% CMC Na) dengan dosis 0,090 mg / 20 g berat badan (kontrol positif I).
- III = Kelompok mencit yang diberi suspensi kuersetin (dalam 0,5% CMC Na) dengan dosis 0,019 mg / 20 g berat badan (kontrol positif II).
- IV = Kelompok mencit yang diberi suspensi Asam galat (dalam 0,5% CMC Na) dengan dosis 0,1 mg / 20 g berat badan (kontrol positif III)
- V = Kelompok mencit yang diberi suspensi ekstrak etanol 96% daun jambu biji (dalam 0,5 % CMC Na) dengan dosis 0,742 mg / 20 g berat badan.
- VI = Kelompok mencit yang diberi suspensi ekstrak etanol 70% daun jambu biji (dalam 0,5 % CMC Na) dengan dosis 0,777 mg / 20 g berat badan
- VII = Kelompok mencit yang diberi suspensi ekstrak etanol 50% daun jambu biji (dalam 0,5 % CMC Na) dengan dosis 0,952 mg / 20 g berat badan

Data kadar Trypan Blue dalam entrail yang diperoleh dari hasil uji permeabilitas vaskular tersebut kemudian dianalisis dengan uji Anova. Hasilnya dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 4.5 Ringkasan hasil statistik Anova Satu Arah dari kadar Trypan Blue ($\mu\text{g}/5\text{mL}$) dalam entrail mencit

Sumber Variasi	Jumlah Kuadrat (SS)	Derajat Bebas (df)	Kuadrat Rata-rata (MS)	F Hitung	Signifikansi
Antar Perlakuan	10825,543	6	1804,257	54,118	0.000
Dalam Perlakuan	1633,631	49	33,339		
Total	12459,174	55			

Dari perhitungan Anova diatas diketahui bahwa signifikansi 0,00 berarti lebih kecil dari 0,05, sehingga dapat disimpulkan minimal ada satu pasang kelompok yang mempunyai perbedaan bermakna. Perhitungan dilanjutkan dengan uji HSD yang hasilnya dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 4.6 Ringkasan hasil perhitungan HSD dari kadar Trypan Blue ($\mu\text{g}/5\text{mL}$) dalam entrail mencit

	I	II	III	IV	V	VI	VII
I	----- ----- 0,000	41,11300*	23,92087*	33,70950*	33,70950*	28,58712*	7,42375*
II		----- ----- 0,000	-17,19213 0,000	-7,40350* 0,013	-7,40350* 0,013	-12,52588* 0,000	-33,68925* 0,000
III			----- ----- 0,001	9,78862* 0,001	9,78862* 0,001	4,66625 0,112	-16,49712* 0,000
IV				----- ----- 1	0,00000 1	-5,12237* 0,082	-26,28575* 0,000
V					----- ----- 0,082	-5,12237* 0,082	-26,28575* 0,000
VI						----- ----- 0,000	-21,16338* 0,000
VII							----- ----- 0,000

(*) = Ada perbedaan bermakna antar kelompok

Keterangan :

- I = Kelompok mencit yang diberi suspensi cab-O-sil dalam 0,5% CMC Na (kelompok kontrol negatif).
- II = Kelompok mencit yang diberi suspensi indometasin (dalam 0,5% CMC Na) dengan dosis 0,090 mg / 20 g berat badan (kontrol positif I).
- III = Kelompok mencit yang diberi suspensi kuersetin (dalam 0,5% CMC Na) dengan dosis 0,019 mg / 20 g berat badan (kontrol positif II).
- IV = Kelompok mencit yang diberi suspensi Asam galat (dalam 0,5% CMC Na) dengan dosis 0,1 mg / 20 g berat badan (kontrol positif III)
- V = Kelompok mencit yang diberi suspensi ekstrak etanol 96% daun jambu biji (dalam 0,5 % CMC Na) dengan dosis 0,742 mg / 20 g berat badan.
- VI = Kelompok mencit yang diberi suspensi ekstrak etanol 70% daun jambu biji (dalam 0,5 % CMC Na) dengan dosis 0,777 mg / 20 g berat badan
- VII = Kelompok mencit yang diberi suspensi ekstrak etanol 50% daun jambu biji (dalam 0,5 % CMC Na) dengan dosis 0,952 mg / 20 g berat badan

Dari rata-rata kadar Trypan Blue dapat dihitung persentase penurunan permeabilitas vascular pada masing-masing kelompok seperti yang terlihat pada table dibawah ini.

Tabel 4.7 Persentase penurunan permeabilitas vaskular (%)

No.	Bahan Uji	%
1.	Kontrol negatif	0
2.	Kontrol positif I (indometasin)	69,033
3.	Kontrol positif II (kuersetin)	40,165
4.	Kontrol positif III (asam galat)	56,601
5.	Ekstrak etanol 96%	56,601
6.	Ekstrak etanol 70%	48,000
7.	Ekstrak etanol 50%	12,465

Dosis yang digunakan didasarkan pada kandungan kuersetin dalam ekstrak, jadi dosis ketiga ekstrak yang digunakan mempunyai kandungan kuersetin yang sama. Dari hasil analisa statistik dapat dilihat bahwa rata-rata kadar Trypan Blue dari kelompok yang diberi perlakuan kuersetin tidak berbeda bermakna dengan kelompok yang diberi perlakuan ekstrak etanol 70%, tapi berbeda bermakna dengan kelompok yang diberi ekstrak etanol 96% dan ekstrak etanol 50%. Jadi dengan kandungan kuersetin yang sama, kelompok yang diberi ekstrak etanol 96% mampu menurunkan kadar Trypan Blue sebesar 56,601 %. Penurunan ini sama dengan kelompok yang diberi asam galat dengan dosis yang sama.

Kelompok yang diberi ekstrak etanol 70% mampu menurunkan rata-rata kadar Trypan Blue sebesar 48% yang tidak berbeda bermakna dengan kelompok yang diberi perlakuan kuersetin, sedangkan kelompok yang diberi perlakuan ekstrak etanol 50% mampu menurunkan rata-rata kadar Trypan Blue hanya sebesar 12,465 %.

Dari hasil yang diperoleh dapat diketahui bahwa aktivitas penurunan permeabilitas vascular dari ekstrak etanol daun jambu biji tidak hanya disebabkan oleh satu senyawa saja (kuersetin saja atau asam galat saja), tapi merupakan aktivitas dari seluruh senyawa yang terkandung di dalamnya. Dilihat dari aktivitasnya dalam menurunkan permeabilitas vascular, maka disarankan untuk menggunakan ekstrak etanol 96% daun jambu biji pada pengobatan demam berdarah, tetapi perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitasnya pada hal-hal lainnya yang terkait dengan patofisiologis demam berdarah.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 96%, ekstrak etanol 70% dan ekstrak etanol 50% daun jambu biji yang diberikan dengan dengan dosis yang setara dengan kuersetin dosis 0,019 mg / 20 g berat badan mampu menurunkan permeabilitas vaskular pada mencit.

Ekstrak etanol 96% mampu menurunkan permeabilitas vascular sebesar 56,601% , penurunan yang lebih besar bila dibandingkan ekstrak etanol 70% dan ekstrak etanol 50%.

2. Saran

Dilihat dari aktivitasnya dalam menurunkan permeabilitas vascular, maka disarankan untuk menggunakan ekstrak etanol 96% daun jambu biji pada pengobatan demam berdarah, tetapi perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitasnya pada hal-hal lainnya yang terkait dengan patofisiologis demam berdarah.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, H., 2001. Pengaruh Pemberian Ekstrak *Psidium guajava* Terhadap Jumlah Trombosit pada Penderita Demam Berdarah Dengue di Bangsal Rawat Inap Penyakit Dalam RSUD Dr. Syaiful Anwar Malang. *Majalah Kedokteran Universitas Brawijaya*, Vol. 27, No. 1, hal 1-5.
- Aliadi, A., 1996. *Tanaman Obat Pilihan*. Jakarta: Yayasan Sidowayah, hal. 79-80.
- Anonim, 2001. Monograph Quercetin. *J Alternative Medicine Review*, Vol. 3, No. 2, [Cited 2003 September 12]. Available from: <http://www.thorne.com/pdf/journal/3-2/quercetinmonograph.pdf>.
- Anonim, 2003. *Bila Anak Demam Jangan Mendokteri Sendiri*. [Diakses tanggal 30 Juni 2003]. Diambil dari: <http://www.suaramerdeka.com/harian/0302/08/kot14.htm>.
- Anonim, 2003. *Daun Jambu Biji Manjur Untuk Demam Berdarah*. [Diakses tanggal 2 September 2003]. Diambil dari: <http://www.pharmasindo.com/Detail.asp?ID=030103084659&Cat=Specials>.
- Anonim, 2004. *Clinical Studies of Resveratrol and Quercetin*, [Cited 2004 July 25]. Diambil dari: <http://www.resveratrol-red-wine.com/clinical-studies.htm>.
- Asih, Y., 1998. *Demam Berdarah Dengue. Diagnosis, Pengobatan, Pencegahan, dan Pengendalian*. Edisi 2, Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Begum, A. N., and Terao, J., 2002. Protective Effect of Quercetin Against Cigarette Tar Extract-induced Impairment of Erythrocyte Deformability. *J Nutr Biochem*, Vol. 13, No. 5, pp. 265-72.
- Bellanti, J.A., 1993. *Imunologi III*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Budavari, S., 1996. *The Merck Index*. Twelfth Edition, NJ: Merck & CO., INC., p. 693.
- Choi, E.J., Chee, K.M., and Lee, B.H., 2003. Anti- and Prooxidant Effect of Chronic Quercetin Administration in Rats. *Eur J Pharmacol*, Vol. 482, No. 1-3, pp. 281-5.
- Dale, M.M., and Foreman, J.C., 1989. *Textbook of Immunopharmacology*. Second Edition, London: Blackwell Scientific Publications.
- Daniel, W.W., 1983. *Biostatistics: A Foundation for Analysis in the Health Sciences*. Canada: John Wiley & Sons Inc., pp. 224-37.

- Depkes RI, 1977. *Materia Medika*, Jilid 1, Jakarta: Departemen Kesehatan RI, hal. 90-4.
- Depkes RI, 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi Keempat, Jakarta: Departemen Kesehatan RI, hal. 90-4.
- Depkes RI, 2000. *Parameter Standart Umum Ekstrak Tanaman Obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI, hal. 7-11.
- Donatus, I. A., 1995. *Toksikologi Dasar*. Edisi Ketiga, Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Funahara, Y., Sumarmo, Shiharata, A., Harun, S.R., Dharma, R., Nishiyama, S., dkk., 1986. *Pengurangan Kebocoran Plasma pada Demam Berdarah Dengue. Medika*, No. 2, Tahun 12, hal. 167-72.
- Gubler, D.J., 1998. *Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 11, No. 3, pp. 480-96, [Cited 2003 September 3]. Available from: <http://www.cmr.asm.org/cgi/reprint/11/3/480.pdf>.
- Guilliams, and Thomas, G., 1998. A Concise Update of Important Issues Concerning Natural Health Ingredients. *Allergies: The Natural Approach*, Vol. 1, No.2.
- Hadinegoro, S.R.H., Soegijanto, S., Wuryadi, S., dan Suroso, T., 2002. Tatalaksana Demam Dengue/Demam Berdarah Dengue pada Anak. Dalam: S.R.H. Hadinegoro, dan H.I. Satari (eds.) *Demam Berdarah Dengue. Naskah Lengkap*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI, hal. 80-132.
- Hargono, D., 1986. *Senarai Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Hargono, D., 2003. Beberapa Hasil Penelitian yang Mendukung Manfaat Tumbuhan Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, Vol. 1, No.1, hal. 33-8.
- Hendarwanto, 1999. *Dengue. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, Edisi Ketiga, Jakarta: Balai Penerbit FKUI, hal. 417-26.
- Kresnamurti, A., 2002. Khasiat Analgetika Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. pada Mencit dengan Metode Writhing Test. *Jurnal Obat Bahan Alam (Journal of Natural Medicine)*, Vol. 1, No. 1, hal. 26-7.
- Li, D.W., Hyun, J.E., Jeong, C.S., Kim, Y.S., and Lee, E.B., 2003. Antiinflammatory Activity of α -Hederin Methyl Ester from the Alkaline Hydrolysate of the Butanol Fraction of *Kalopanax pictus* Bark Extract. *Biological Pharmaceutical Bulletin*, Vol. 24, No. 4, pp. 429-33, [Cited 2003

September 2]. Available from: http://www.bpb.pharm.or.jp/bpb/200304/b04_0429.pdf.

- Mansjoer, A., 1999. *Kapita Selektu Kedokteran*. Edisi Ketiga, Jilid I, Jakarta: Media Aesculapius FKUI, hal. 428-33.
- Nicolau, M., Dovichi, S.S., Cuttle, G., 2003. Pro-Inflammatory Effect of Quercetin by Dual Blockade of Angiotensin Converting-Enzyme and Neutral Endopeptidase In vivo. *Nutr Neurosci*, Vol. 5, pp. 309-16.
- Novriani, H., 2002. Respon Imun dan Derajat Kesakitan Demam Berdarah Dengue dan Dengue Shock Syndrome. *Cermin Dunia Kedokteran*, No. 134, hal. 46-8.
- Ozaky, Y., Sekita, S., Soedigdo, S., and Harada, M., 1989. Antiinflammatory Effect of *Graptophyllum pictum* (L.) GRIFF. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, Vol. 37, No. 10, pp. 2799-802.
- Paget ,and Barnes, 1964. Evolution of Drug Activities. In: Lawrence and Bacharach (Eds.). *Pharmacokinetics*, Vol. 1, New York: Academic Press.
- Sigal, L.H., 1994. *Imunology and Inflammation*. USA : McGraw-Hill, Inc.
- Skaper, S.D., Fabris, M., Ferrari, V., Carbonare, M.D., and Leon, A., 1997. Quercetin Protects Cutaneous Tissue-Associated Cell Types Including Sensory Neurons from Oxidative Stress Induced by Glutathione Depletion: Cooperative Effects of Ascorbic Acid. *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 22, No. 4, pp. 669-78, [Cited 2004 April 15]. Available from: <http://www.Redwings.org/HTMLarts/querproa.htm>.
- Sudradjat, 2000. *Demam Berdarah Dengue (DBD)*. [Diakses tanggal 4 September 2003]. Diambil dari: http://www.geocities.com/mitra_sejati_2000/dbd_html.
- Sugiarso, N.C., 2002. Pengembangan Obat Tradisional Lewat Pendekatan Ethnofarmakologis. *Jurnal Obat Bahan Alam (Journal of Natural Medicine)*, Vol, 1, No. 1, hal. 2-5.
- Suroso, T., dan Umar, A.I., 2002. Epidemiologi dan Penanggulangan Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) di Indonesia Saat Ini. Dalam: S.R.H. Hadinegoro, dan H.I. Satari (Eds.). *Demam Berdarah Dengue*. Naskah Lengkap, Jakarta: Balai Penerbit FKUI, hal. 14-31.
- Tjitrosoepomo, G., 1988. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press, hal. 219-22.
- Wijayakusuma, H.M.H., 1994. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Jilid Ke-2, Jakarta: Pustaka Kartini, hal. 61-3.

- Wilcocks, and Bahr, M., 1972. *Manson's Tropical Diseases*. Seventeenth Edition, USA: Williams and Wilkins Company.
- Wilmana, P.F., 1995. Analgesik-Antipiretik Analgesik Anti-Inflamasi Non Steroid dan Obat Pirai. Dalam: S.G. Ganiswarna (Eds.). *Farmakologi dan Terapi*, Ed. 4, Jakarta: Fakultas Kedokteran-Universitas Indonesia, hal. 219.
- Wiyoto, G.B., 1999. *Efek Antiinflamasi dari Perasan Kering Buah Morinda citrifolia Linn. secara Per Oral pada Tikus Putih dan Mencit*, hal. 36-8.
- Zhang, W.J., Chen, B.T., Wang, C.Y., Zhu, Q.H., Mo, Z.X., 2003. Mechanism of Quercetin as an Antidiarrheal Agent. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, Vol. 23, No. 10, pp. 1029-30.