

Fraksi Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Sebagai Antiinflamasi Terhadap Kadar Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α)

Parawansah^{1,2}, Nuralifah², Yulfa²

¹ Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Halu Oleo, Kendari, Indonesia
Kampus Hijau Bumi Tridharma Anduonohu. Jl. H.E.A. Mokodompit, Kendari 93232,

² Departemen Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo, Kendari, Indonesia
Kampus Hijau Bumi Tridharma Anduonohu. Jl. H.E.A. Mokodompit, Kendari 93232,

* Penulis Korespondensi. Email: parawansah@uho.ac.id

ABSTRAK

Inflamasi merupakan respon imun baik spesifik maupun non spesifik. Buah pare mengandung golongan senyawa flavonoid, dan terpenoid yang berpotensi sebagai antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air pada ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) terhadap kadar Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) pada tikus wistar. Penelitian ini menggunakan *post test only group design*. Menggunakan 6 kelompok perlakuan kontrol normal, kontrol positif (natrium diklofenak), kontrol negatif (NaCMC 0,5%) dan kelompok uji (fraksi n-heksan buah pare dosis 150 mg/kgBB, fraksi etil asetat buah pare dosis 150 mg/kgBB dan fraksi air buah pare dosis 150 mg/kgBB). Uji *in vivo* dilakukan induksi inflamasi, pemberian sediaan dan pengukuran kadar TNF- α dengan metode ELISA. Data dianalisis menggunakan *One Way ANOVA*. Hasil penelitian menunjukkan rerata kadar TNF- α kontrol normal (0,494 ng/L) kontrol positif (0,507 ng/L), kontrol negatif (0,721 ng/L), kelompok uji fraksi n-heksan (0,487 ng/L), kelompok uji fraksi etil asetat (0,513 ng/L) dan kelompok uji fraksi air (0,563 ng/L). Kesimpulan yang diperoleh semua kelompok uji memiliki aktivitas antiinflamasi. Dan kelompok uji fraksi n-heksan memiliki aktivitas antiinflamasi yang paling baik dari pada kelompok uji yang lain.

Kata Kunci:

Antiinflamasi; *Momordica charantia* L.; Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α)

Diterima:
30-01-2022

Disetujui:
9-02-2022

Online:
25-02-2022

ABSTRACT

Inflammation is an immune response specific and non-specific. *Momordica* contains a class of flavonoid compounds and terpenoids that have the potential as anti-inflammatory. This study aims to determine the anti-inflammatory activity of the n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction in the ethanolic extract of *Momordica charantia* L. on levels of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) in wistar rats. This study uses a *post test only group design*. Using 6 normal control treatment groups, positive control (diclofenac sodium), negative control (NaCMC 0.5%) and the test group (n-hexane fraction of bitter melon at a dose of 150 mg/kgBW, ethyl acetate fraction in bitter melon at a dose of 150 mg/kgBW and the water fraction of bitter melon at a dose of 150 mg/kgBW). *In vivo* tests were performed on inflammation induction, administration of preparations and measurement of TNF- α levels using the ELISA method. Data were analyzed using *One Way ANOVA*. The results showed the average TNF- α level in normal control (0.494 ng/L) positive control (0.507 ng/L), negative control (0.721 ng/L), n-hexane fraction test group (0.487 ng/L), group the ethyl acetate fraction test (0.513 ng/L) and the water

fraction test group (0.563 ng/L). The conclusion obtained by all test groups has anti-inflammatory activity. The n-hexane fraction test group had the best anti-inflammatory activity than the other test groups. The conclusion obtained by all test groups has anti-inflammatory activity. The n-hexane fraction test group had the best anti-inflammatory activity than the other test groups. The conclusion obtained by all test groups has anti-inflammatory activity. The n-hexane fraction test group had the best anti-inflammatory activity than the other test groups.

Copyright © 2022 Jsscr. All rights reserved.

Keywords:

Anti-Inflammatory; Mommordica charantia L.; Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α)

Received:	Accepted:	Online:
2022-01-30	2022-02-9	2022-02-25

1. Pendahuluan

Inflamasi merupakan suatu respon imun baik spesifik maupun non spesifik dimana tubuh berperan dalam melawan agen penyebab kerusakan sel pada daerah lokal yang mengalami cedera, seperti karena terinfeksi, iritasi, trauma fisik, luka bakar dan lain sebagainya [1]. Inflamasi baik respon lokal maupun sistemik ditandai oleh pembengkakan (edema), kemerahan, panas, nyeri, dan perubahan fungsi [2]. Selama respons inflamasi, mediator, seperti sitokin pro-inflamasi, termasuk interleukin IL-1, tumor nekrosis faktor (TNF), interferon (IFN)- γ , IL-6, IL-12, IL-18 dan granulosit-makrofag faktor perangsang koloni, dilepaskan [3].

Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) merupakan sitokin utama pada respon inflamasi akut terhadap bakteri gram negatif dan mikroba lainnya. Sumber utama TNF- α ialah fagosit mononuklear dan sel T yang diaktifkan antigen, sel NK, dan sel mast. Lipopolisakarida merupakan rangsangan poten terhadap makrofag untuk menyekresi TNF. IFN- γ yang diproduksi sel T dan sel NK juga merangsang makrofag antara lain meningkatkan sintesis TNF [4]. Tumor nekrosis faktor terdiri dari dua bentuk yang berbeda yaitu TNF yang terikat membran (mTNF) dan TNF terlarut (sTNF atau TNF). sTNF mengikat dua secara struktural reseptor transmembran yaitu TNFR1 dan TNFR2, kedua reseptor mengatur ekspresi gen melalui jalur pensinyalan berbeda. TNFR1 dapat diaktifkan oleh mTNF dan TNF, sedangkan TNFR2 secara khusus mengikat mTNF untuk memulai aktivasi dari reseptor [5].

Obat antiinflamasi yang umumnya digunakan terbagi menjadi dua kelompok besar yaitu antiinflamasi golongan steroid dan antiinflamasi golongan nonsteroid. Namun, kedua golongan obat tersebut memiliki efek samping yang cukup serius pada penggunaannya seperti pendarahan pada gastrointestinal dan tukak peptik [6].

Tanaman yang dipercaya memiliki efek antiinflamasi adalah buah pare (*Momordica charantia* L.). Buah pare (*Momordica charantia* L.) merupakan tanaman yang umum di Asia yang dilaporkan mempunyai aktivitas antiinflamasi. Hasil uji fitokimia didapatkan bahwa buah pare mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid dan triterpenoid [7]. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air pada ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) terhadap penurunan kadar TNF- α pada tikus wistar yang mengalami inflamasi.

2. Metode

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah Rotary Vacuum Evaporator (Buchi®), seperangkat alat KIT ELISA TNF- α rat (Bioassay Technology Laboratory®), Oven (Inaco®), erlenmeyer

(Pyrex®), timbangan analitik (Precisa®), Spektrofotometer 20-D (Thermo SPectronic®), gelas ukur (Pyrex®), gelas kimia (Pyrex®), inkubator (Mettler®), mesin sentrifugasi (Boeco®), hotplate, magnetic stirrer, mikropipet, tabung EDTA 5 cc.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah etanol 96%, pakan standar, carrageenan, Na CMC 0,5% (Food Grade®) dan natrium diklofenak 50 mg, buah pare, aquades, larutan N-heksan, larutan etil asetat, tikus jantan galur wistar apas (*Rattus norvegicus*),

Prosedur Fraksinasi

Buah pare yang telah dipanen seberat 15 kg dicuci dengan akuades hingga bersih dari pengotor seperti debu dan tanah selanjutnya dikeringkan. Simplisia buah pare sebanyak 628 gram dimaserasi dengan pelarut etanol 96% selama 3x24 jam pada suhu kamar dengan beberapa kali pengadukan. Kemudian dilakukan penyaringan maserat pertama dengan kertas saring. Maserasi dilakukan berulang-ulang hingga diperoleh filtrat yang bening. Filtrat dikumpulkan dan dipekatkan dengan rotary vacuum evaporator. Dimasukkan ± 500 mL fraksi cair kedalam labu alas bulat kemudian dipasang labu alas bulat tersebut pada kondensor. Selanjutnya dinyalakan alat evaporator pada suhu 50°C kemudian ditunggu hingga diperoleh ekstrak kental [6].

Fraksinasi dilakukan menggunakan perbandingan pelarut 1:1. Sebanyak 10 gram ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L.) dilarutkan dalam 1000 ml aquades. Larutan ekstrak tersebut diambil sebanyak 50 ml dan dimasukkan dalam corong pisah kemudian tambahkan 50 ml n-heksan. Campuran tersebut dikocok selama ± 15 menit secara perlahan-lahan dan sesekali dibuang gas dari corong pisah. Diamkan beberapa saat hingga terjadi proses pemisahan yang menghasilkan fraksi n-heksan dan fraksi residu ekstrak. Lapisan n-heksan (bagian atas) dipisahkan dengan membuka kran corong pisah sampai lapisan air habis. Diambil lapisan n-heksan kemudian dipisahkan sebagai fraksi n-heksan. Dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali [8].

Fraksi residu ekstrak diambil sebanyak 50 ml dan dimasukkan dalam corong pisah kemudian tambahkan 50 ml etil asetat. Dilakukan perlakuan yang sama seperti pada fraksi n-heksan.. Dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali. Selanjutnya masing-masing fraksi yang telah diperoleh, diuapkan dengan rotary vacuum evaporator pada suhu 50 °C hingga kental tapi masih bisa dituang. Kemudian fraksi tersebut dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C hingga diperoleh bobot tetap.

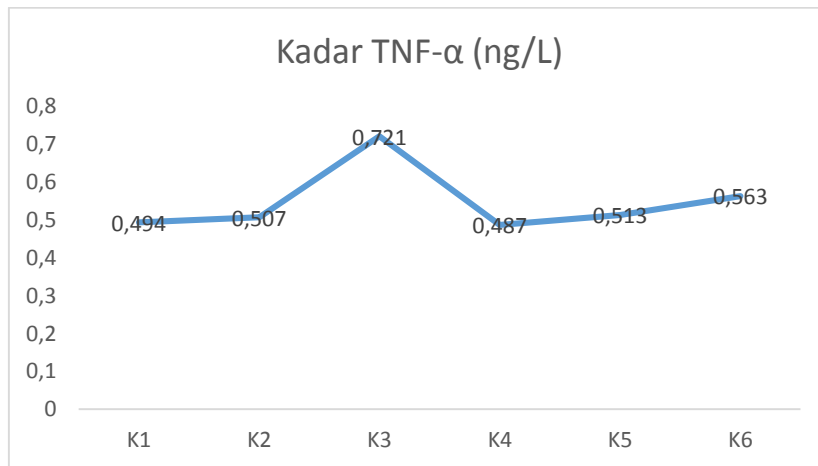
Sampel penelitian ini menggunakan tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang berusia 10-12 minggu dengan bobot badan 100-200 gram. Penelitian ini membagi tikus menjadi 6 kelompok terdiri dari kelompok kontrol normal, kontrol positif (natrium diklofenak), kelompok kontrol negatif (Na-CMC 0,5%), dan 3 kelompok perlakuan (fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air pada ekstrak etanol buah pare) dengan dosis 150 mg/kgBB.

Dilakukan aklimatisasi tikus selama 7 hari. Untuk induksi inflamasi, umumnya dilakukan pembuatan larutan 1% carrageenan dalam akuades lalu dilakukan injeksi intraplantar dengan dosis 0,1 ml [9]. Setelah 1 jam pemberian induksi, kemudian dilakukan treatment pada setiap kelompok perlakuan. 1 jam berikutnya dilakukan pembedahan pada seluruh kelompok perlakuan yang sebelumnya telah dieuthanasi secara kimia menggunakan eter untuk kemudian dilakukan pengambilan darah tikus melalui jantung. Darah yang diperoleh kemudian disimpan dalam tabung vakum berisi antikoagulan EDTA 0,1% dan disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 25 menit untuk memisahkan antara plasma darah dan residu [10],[11].

Sampel plasma darah yang diperoleh kemudian akan dilakukan pemeriksaan menggunakan metode *Sandwich* ELISA. Antibodi spesifik TNF- α telah dipreparasi pada plat 96 well. Standar dan sampel uji ditambahkan kedalam well, selanjutnya ditambahkan antibodi pendeteksi spesifik TNF- α dan kemudian dibilas dengan buffer untuk menghilangkan antibodi atau konjugat yang tidak terikat. Ditambahkan substrat A dan substrat B untuk memvisualisasikan reaksi enzimatis yang kemudian dikatalisis oleh streptavidin peroxidase untuk menghasilkan produk berwarna biru. Selanjutnya plat diinkubasi kemudian ditambahkan larutan stop penghenti asam sehingga berubah menjadi warna kuning. Kemudian dilakukan pengukuran densitas optik menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm.

3. Hasil dan Pembahasan

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Simplisia buah pare dimaserasi menggunakan etanol 96% selama 3x24 jam. Hasil maserasi berupa maserat dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Proses evaporasi Ekstrak buah pare yang diperoleh sebanyak 34,28 gram. Ekstrak buah pare yang telah diperoleh kemudian dilakukan fraksinasi. Seluruh fraksi air, etil asetat, dan n-heksana yang diperoleh selanjutnya diuapkan pelarutnya, selanjutnya dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi ekstrak etanol buah pare. Kemudian dilakukan pengujian aktivitas antiinflamasi fraksi ekstrak etanol buah pare terhadap kadar *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) pada tikus wistar.



Keterangan : K1 =Kontrol Normal; K2 =Kontrol Positif; K3 =Kontrol Negatif; K4 =Kelompok uji fraksi etil asetat dosis 150 mg/kg BB; K5 =Kelompok uji fraksi n-heksan dosis 150 mg/kg BB; K6 =Kelompok uji fraksi air dosis 150 mg/kg BB.

Gambar 1. Rerata kadar TNF- α pada masing-masing kelompok

Pemeriksaan Kadar TNF- α diuji dengan menggunakan *Kit ELISA Rat TNF- α* . Berdasarkan uji ELISA didapatkan hasil rerata pengukuran kadar TNF- α pada masing-masing kelompok perlakuan. Pengujian aktivitas antiinflamasi pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan 6 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol normal tidak diberikan perlakuan apapun karena kontrol normal digunakan untuk melihat bahwa hewan coba yang digunakan normal, kontrol positif (natrium diklofenak) digunakan untuk membandingkan apakah kelompok uji memiliki efektivitas sebagai

antiinflamasi yang sama dengan kelompok kontrol positif atau tidak, kelompok control negatif (Na-CMC 0,5%) digunakan sebagai pembanding untuk mengetahui apakah kelompok uji berpotensi sebagai antiinflamasi atau tidak, dan 3 kelompok perlakuan (fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air pada ekstrak etanol buah pare) dengan dosis 150 mg/kgBB.

Pengambilan darah tikus dilakukan 1 jam setelah pemberian suspensi uji dan 2 jam setelah diinduksi karagenan mengakibatkan terbentuknya radang yang terdiri dari dua fase, yaitu 1 sampai 2 jam setelah injeksi karagenan, menyebabkan trauma akibat radang yang ditimbulkan oleh karagenan [12]. Pada fase pertama terjadi pelepasan serotonin dan histamin ke tempat radang serta terjadi peningkatan sintesis prostaglandin pada jaringan yang rusak. Pada fase kedua terjadi pelepasan prostaglandin dan dimediasi oleh bradikinin dan leukotrien [13],[14]. Atas dasar tersebut, pada penelitian ini evaluasi kadar TNF- α dilakukan pada fase kedua (awal jam ke-2) dimana fase kedua merupakan waktu yang baik untuk mengevaluasi manfaat klinis penggunaan agen anti-inflamasi [15].

Produksi TNF- α sebagai sitokin dipengaruhi oleh aktivasi sinyal NF- κ B (Nuclear Factor of κ B). Protein adaptor TRADD (TNFR1 Associated Death Domain protein) terikat pada TRAF2 (TNFR Associated Factor 2) dan RIP (Receptor Interacting Protein) akan terlepas akibat adanya rangsangan pada reseptor. Selanjutnya TRAF2 akan mengikat IKK (I κ B kinase) dan diaktifkan oleh RIP sehingga memfosforilasi I κ B (Inhibitor of κ B) yaitu sebuah protein penghambat yang berikatan dengan NF κ B (Nuclear Factor of κ B) yang berfungsi menghambat translokasi. Setelah fosforilasi, I κ B akan terdegradasi dan melepaskan faktor transkripsi NF κ B yang mentranslokasi ke nukleus untuk memediasi transkripsi protein yang terlibat dalam aktivasi, proliferasi, dan kelangsungan hidup sel [16].

Perbedaan hasil inflamasi pada setiap kelompok perlakuan dapat dilihat melalui kurva rerata kadar TNF- α diatas. Berdasarkan hasil rerata kadar TNF- α pada kelompok uji fraksi ekstrak etanol buah pare dapat diketahui bahwa kadar TNF- α pada kelompok kontrol negatif lebih tinggi dibandingkan kelompok lain. Hal ini dikarenakan proses eliminasi agen penyebab inflamasi pada kelompok kontrol negatif berlangsung secara alamiah tanpa bantuan agen anti-inflamasi. Kadar TNF- α pada kelompok kontrol normal memiliki nilai yang rendah. Hal ini dikarenakan kelompok normal tidak diberikan induksi karagenan, sehingga tidak terjadi peradangan dan peningkatan kadar TNF- α pada kelompok tersebut. Pada kelompok positif (natrium diklofenak) kadar TNF- α memiliki nilai yang lebih rendah dibandingkan kelompok uji fraksi etil asetat dan fraksi air.

Kadar TNF- α pada kelompok uji fraksi n-heksan memiliki nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok uji fraksi etil asetat dan fraksi air. Dan memiliki kadar TNF- α yang lebih rendah dari kelompok positif. Hal ini karena senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid dan terpenoid yang terkandung dalam fraksi N-heksan yang bertanggung jawab sebagai antiinflamasi dengan cara menekan aktivitas sitokin pro inflamasi [17]. Terpenoid dapat mengurangi inflamasi pada kaki tikus yang diinduksi karagenan dengan cara menghambat ekspresi enzim COX-2 dan iNOS. Mekanisme lain terpenoid sebagai anti inflamasi yaitu menekan produksi PGE₂ yang diinduksi LPS dan mengurangi produksi leukotrien B₄ (LTB₄) dan tromboxan B₂ (TXB₂) [18]. Sitokin inflamasi diproduksi dan diatur ditingkat transkripsi dapat meningkatkan atau menghambat proses inflamasi. Telah diamati bahwa beberapa flavonoid mampu

mengurangi ekspresi yang berbeda sitokin/kemokin proinflamasi, termasuk TNF- α , IL-1b, IL-6, IL-8 dan dalam berbagai jenis sel seperti makrofag, sel T yang diinduksi LPS monosit [19],[20].

Senyawa flavonoid yang terkandung dalam buah pare yaitu golongan luteolin, quersetin, dan kamferol. Senyawa luteolin, kuersetin, dan kaemferol berperan penting dalam antiinflamasi melalui mekanisme yang berbeda. Kuersetin diketahui dapat menghambat COX-2 dan 5-LOX yang terlibat dalam produksi eikosanoid dari asam arakidonat. Kandungan kuersetin dalam buah pare juga dapat menghambat produksi nitric oxide dan ekspresi protein iNOS. Luteolin dalam buah pare dapat menghambat aktivasi NF- κ B, sedangkan kaemferol dapat menghambat produksi TNF- α [21],[22]. Kadar TNF- α pada kelompok fraksi etil asetat lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok uji fraksi air. Hal ini dikarenakan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi etil asetat yaitu diantaranya flavonoid dan terpenoid yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi. Namun, Kadar TNF- α pada kelompok fraksi etil asetat tidak lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok uji fraksi n-heksan. Hal ini dikarenakan senyawa terpenoid memiliki sifat non-polar sehingga senyawa ini lebih banyak tertarik kedalam fraksi n-heksan yang bersifat non-polar dari pada fraksi etil asetat yang bersifat semi polar.

Kadar TNF- α pada kelompok fraksi air memiliki nilai yang lebih rendah dari kelompok kontrol negatif namun tidak lebih rendah dari kelompok uji fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat. Hal ini karena dalam fraksi air hanya terkandung senyawa flavonoid yang bekerja dengan cara mengurangi ekspresi yang berbeda sitokin/kemokin proinflamasi, termasuk TNF- α , IL-1b, IL-6, IL-8 dan dalam berbagai jenis sel seperti makrofag, sel T yang diinduksi LPS monosit [23].

Data kadar TNF- α pada masing-masing kelompok kemudian diujikan secara statistik menggunakan SPSS (*Statistical Package For Social Science*) One Way ANOVA dengan taraf kepercayaan 95% dan tingkat signifikansi (tingkat kesalahan 5% ($\alpha = 0,05$)). Kemudian dilakukan analisis dengan uji Beda Nyata Jujur (*Post Hoc Tukey*) untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan yang lainnya. Berdasarkan uji *Post Hoc Tukey* dari ketiga kelompok uji (fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air), fraksi n-heksan memiliki aktivitas antiinflamasi yang paling baik. Hal ini dilihat dari kadar TNF- α yang lebih rendah dari kelompok uji fraksi etil asetat dan fraksi air. Dan memiliki efektivitas yang lebih baik dari kelompok positif, dilihat dari penurunan kadar TNF- α pada fraksi n-heksan lebih rendah dari pada kadar TNF- α pada kelompok kontrol positif.

4. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh semua kelompok uji memiliki aktivitas antiinflamasi. Kelompok uji fraksi n-heksan memiliki aktivitas antiinflamasi terhadap TNF- α yang lebih baik dari pada kelompok uji yang lain.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kami ucapkan kepada semua pihak yang telah terlibat baik dalam persiapan, pelaksanaan, maupun pengolahan hasil penelitian ini, serta pendampingan pada Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Halu Oleo.

Referensi

- [1]. Latha Y, Vasavithirumalanadhuni, Vani M, Palempalli UM. In Vivo Anti-Inflammatory Activity Of Ethyl Acetate Extract Derived From Marine Streptomyces Carpathicus. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2017;8(12):5221-5226.
- [2]. Fristiohady A, Wahyuni W, Wa Oil K, La Omj P, Saripuddin S, Idin S. Anti-Inflammatory Activity of Marine Sponge *Aaptos* sp. to the Plasma Interleukin-1 β Level in Wistar Male Rats. *Pharmacology and Clinical Pharmacy Research*. 2019;4(20).
- [3]. Lintang K, Sitorus P, Dalimunthe A. Anti-Inflammatory Activity of Ethanol And Fraction of Buni Leaves (*Antidesma Bunius* L.) on White Rat In Carrageenan Induced Paw Inflammation. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*. 2019;7(5): 01-05.
- [4]. Supit IA, Damajanty HCP, Silvy RM. Profil Tumor Necrosis Factor (TNF- α) Berdasarkan Indeks Massa Tubuh (IMT) Pada Mahasiswa Fakultas Kedokteran Unsrat Angkatan 2014. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*. 2015;3(2): 640-643.
- [5]. Yan L, Dejin Z, Ren HX. Critical Role Of Tumor Necrosis Factor Signaling In Meshencymal Stem Cell-Based Therapy For Autoimmune And Inflammatory Diseases. *Frontiers In Immunology*. 2018; 9(1658).
- [6]. Cruz MP, Andrade CMF, Silva KO, de Souza EP, Yatsuda R, Marques LM, et al. Antinociceptive and Anti-inflammatory Activities of the Ethanolic Extract, Fractions and Flavones Isolated from *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir (Leguminosae). *Journal Plos One*. 2016;11(3).
- [7]. Parawansah, Wahyuni, Zakiyatul M. Uji Efek Antipiretik dan Antiinflamasi Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) terhadap Mencit Jantan. *Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo*. 2016;4(1): 309-315.
- [8]. Zahra A, Kusmardi, Hadi S. Uji Sitotoksitas Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol 70% Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Sel HeLa (disertasi). Jakarta. Universitas Muhammadiyah Prof Dr. Hamka. 2018.
- [9]. Santi TD. Uji Toksisitas Akut Dan Efek Antiinflamasi Ekstrak Metanol Dan Ekstrak n-Heksan Daun Pepaya. *Pharm Sci Res*. 2015;2(2).
- [10]. Sujono, Yumna AM., Meilanda PS. Kadar Protein Total dan Ureum Dengan dan Tanpa Penambahan cyclodextrin pada Serum Lipemik. *Jurnal Teknologi Laboratorium*. 2016;5(1).
- [11]. Parawansah, Sudayasa IP, Nuralifah. Kholidha ANS, Eso A, Rahayu WOSF, Sandra F. *Momordica charantia* L. Fruit Fractions inhibit Malondialdehyde Level and Regenerate Hepatic Damage of Hyperglycemic Rats. *Indones Biomed J*. 2020; 12(1).
- [12]. Kim KH, Hyeon WI, Mrigendra BK, Sejong K, Byoung HM, et al. Low-Intensity Ultrasound Attenuates Paw Edema Formation And Decreases Vascular Permeability Induced By Carrageenan Injection In Rats, *Journal of Inflammation*. 2020; 17(7): 2.
- [13]. Bhuvad SB, Nishteswar K, Rabinarayan A. Mukesh BN. Comparative anti-inflammatory and analgesic activities of leaf powder and decoction of *Chirabilva* (*Holoptelea integrifolia* (Roxb.) Planch). *Pharmacological Study*. 2014;35(3).

- [14]. Luliana S, Ressi S, Ellya A. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Air Herba Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Karagenan, Traditional Medicine Journal. 2017; 22(3): 204.
- [15]. Adnyasari IAPS, Ni Made P, I Made S. Potensi Antiimplamasi Secara In Vivo Ekstrak Etanol Batang Antawali (*Tinospora sinensis*) Pada Tikus Wistar Yang Diinduksi Karagenan, Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry). 2017; 5(2): 115.
- [16]. Urschel K, Iwona C. TNF- α in the cardiovascular system: from physiology to therapy. International Journal of Interferon, Cytokine and Mediator Research. 2015;7:9-25.
- [17]. Amri O, Abderrahmane Z, Abdellah B, Saida T. Abdelhakim H. Anti-inflammatory Activity of Methanolic Extract from Pistacia atlantica Desf. Leaves. Journal Pharmacogn. 2018; 10(1):71-76
- [18]. Ahmad B, Shah M, Choi S. Oceans As A Source Of Immunotherapy. Marine Drugs. 2019;17(282):1-37.
- [19]. Soleha T. M Agung YP. Blueberry (*Vaccinium Corymbosum*) dalam Menghambat Proses Inflamasi. Majority. 2016;5(1).
- [20]. Domini FBA, I Dewa ARD, Erawati W. Analisis Jumlah Sel Monosit yang Mengekspresikan TNF-A setelah dipapar *Porphyromonas Gingivalis* dan Tulang Ikan Kuniran (*Upeneus Sulphureus*) dengan Teknik Imunositokimia, Jurnal Kesehatan Gigi. 2019; 6(2): 87-88.
- [21]. Muhtadi, Lita WA. Aktivitas Antiinflamasi Dari Kombinasi Ikan Gabus (*Channa striata*) Dan Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi Karagin. The 5th Urecol Proceeding. 2017 February 18, Yogyakarta, Indonesia: Universitas Ahmad Dahlan. 2017.
- [22]. Ramadhani N, Sri AS. Aktivitas Antiinflamasi Berbagai Tanaman Diduga Berasal dari Flavonoid. FARMAKA. 2016; 14(2): 114.
- [23]. Amir N, Dhea A, Novia E, Ardi. Potensi Cangkang Sotong (*Sepia* Sp.) Sebagai Antiinflamasi Pada Penderita Penyakit Asma. Jurnal IPTEKS PSP. 2019; 6(12): 212.