

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) TERHADAP AKTIVITAS ANALGESIK DAN ANTIINFLAMASI MELALUI EKSPRESI ENZIM SIKLOOKSIGENASE

ANALGESIC AND ANTIINFLAMMATORY ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT OF KELOR LEAVES (*Moringa oleifera* L.) THROUGH EXPRESSION OF CYCLOOXYGENASE ENZYME

Rini Sulistyawati, Pramita Yulli Pratiwi

Akademi Analis Farmasi Makanan dan Minuman Al Islam Yogyakarta

Gedongkiwo MJ I/814 Yogyakarta

Email: sulistyawati.rini@yahoo.co.id

Submitted: 15-10-2015

Reviewed: 01-12-2015

Accepted: 26-04-2016

ABSTRAK

Kelor (*Moringa oleifera* L.) mengandung flavonoid sebagai zat berkhasiat utama. Quercetin diketahui menghambat COX-2 pada proses inflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor terhadap aktivitas analgesik dan antiinflamasi pada mencit. Studi analgesik dilakukan pada mencit pada dosis 12,5; 25 dan 50 mg/kgBB dengan metode geliat. Sedangkan aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan pengukuran volume udem ekstrak etanol daun kelor pada dosis 35; 70 dan 140 mg/kgBB. Sebagai kontrol positif digunakan aspirin untuk aktivitas analgesik dan natrium diklofenak pada uji antiinflamasi. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun kelor pada dosis 25 dan 50 mg/kgBB menurunkan jumlah geliat dan memiliki daya analgesik 76,41±2,73% dan 80,41±5,20%, sedangkan pada dosis 140 mg/kgBB memberikan daya antiinflamasi sebesar 24,30±2,960% dan penurunan ekspresi COX-2 46,37±6,434%.

Kata kunci: kelor (*Moringa oleifera* L.), analgesik, antiinflamasi, udem, geliat

ABSTRACT

Kelor (*Moringa oleifera* L.) contains flavonoid as a major of bioactive constituent. Quercetin as a flavonoid group inhibits COX-2 in inflammatory process. This study aimed to determine the effect of ethanol extract of the kelor leaves on the analgesics and antiinflammatory in mice. Ethanol extract of the kelor leaves were evaluated for analgesics activity through writhing assay test at doses of 12.5; 25 and 50 mg/kgBW using Swiss albino mice. On the other hand antiinflammatory assay was performed by carrageenan induced paw edema of the ethanol extract of the kelor leaves at 35; 70 and 140 mg/kgBW. Aspirin and sodiumdiclofenac were employed as a standard for analgesic and antiinflammatory studies respectively. The result of the analysis show that ethanol extract of the kelor leaves at doses 25 and 50 mg/kgBW decrease the number of writhing so that it have an analgesic power of 76.41±2.73% and 80.41±5.20%. Ethanol extract of the kelor leaves at dosage 140 mg/kgBW show 24.30±2.960% antiinflammatory power and 46.37±6.434% on decreased COX-2 expression.

Keywords: kelor (*Moringa oleifera* L.), analgesics, antiinflammatory, edema writhing assay.

PENDAHULUAN

Obat antiinflamasi adalah golongan obat dengan aktivitas pada penahanan atau pengurangan radang. Aktifitas ini dapat dicapai dengan berbagai mekanisme, yaitu penghambatan pembentukan mediator radang prostaglandin dengan inhibisi enzim siklooksigenase (Nugroho, 2012). Berbagai penelitian menunjukkan bahwa obat antiinflamasi non steroid memiliki efek samping yang serius

terutama jika digunakan dalam jangka panjang. Pemakaian antiinflamasi nonsteroid jangka panjang berefek negatif pada ginjal, liver dan saluran pencernaan. Obat antiinflamasi sintetik tersebut juga dirasakan terlalu mahal dan berdampak efek samping yang serius (Kertia, 2009). Penelitian terhadap tanaman obat dapat memberi landasan ilmiah yang kuat bagi masyarakat dan sebagai bahan baku obat antiinflamasi di masa mendatang. Sepanjang penelusuran pustaka penelitian mengenai aktivitas analgesik dan antiinflamasi daun kelor belum pernah dilaporkan.

Berbagai penelitian mengenai khasiat tanaman kelor telah banyak disitasi. Sashidara dkk (2009) melaporkan efek antiinflamasi dan antinosisseptik bagian akar tanaman kelor. Kelor juga dilaporkan memberikan aktivitas sebagai hepatoprotektif dan antibiotik (Eleirt, 2007). Ekstrak etanol daun kelor yang dikombinasi dengan 5-flourourasil dilaporkan sebagai kemoterapi pada sel kanker kolon (Nur, 2011). Kelor juga dilaporkan memiliki aktivitas kemopreventif (Barali, 2003) serta sebagai antiinflamasi, antispasmodik, antidiuretik, penurun kolesterol, antioksidan, antidiabetes dan antifungi. Penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas analgesik dan antiinflamasi ekstrak etanol daun kelor. Uji aktivitas analgesik dilakukan dengan metode geliat dengan induksi asam asetat dan uji aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan pengukuran volume udem pada telapak kaki kiri mencit.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi: alat-alat gelas, perangkat ekstraksi, *rotary evaporator*, jarum p.o, jarum i.p, timbangan tikus (Ohaus), perangkat kandang dan plestismometer (Ugo Basile, Italia). Bahan utama yang digunakan adalah daun kelor yang diperoleh dari Gunungkidul dengan etanol 75% sebagai larutan penyari. Bahan uji aktivitas analgesik meliputi: mencit galur Swiss bobot 20-30 gram, asam asetat dan aspirin sedangkan uji aktivitas antiinflamasi meliputi mencit galur Swiss bobot 20-30 gram, karagenin (Sigma), NaCl 0,9% dan natrium diklofenak.

Jalannya Penelitian

Penyiapan sampel dan pembuatan ekstrak

Daun disortir, dicuci dan diangin-anginkan semalam, kemudian dioven pada suhu 50°C selama 3 x 24 jam dan diserbuk. Sebanyak 500 g serbuk daun kelor dimaserasi dengan 3, 5 L etanol 75% selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil diaduk berulang-ulang. Setelah 5 hari disaring dengan penyaring vakum dan residu dimaserasi kembali dengan 1 L etanol 75% selama 24 jam. Maserat yang didapat dipekatkan sampai pekat dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 60°C dan hasil yang didapat adalah ekstrak kental etanol daun kelor (Anonim, 1986).

Uji aktivitas analgesik yang diinduksi asam asetat 1% v/v

Pengujian dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap pola searah. Mencit sebanyak 25 ekor dibagi dalam 5 kelompok dengan 5 ekor perkelompok. Kelompok I kelompok kontrol normal hewan uji hanya diberikan pelarut CMC Na 1%, kelompok II diberikan aspirin dosis 300 mg/kgBB p.o, kelompok III mencit diberikan ekstrak etanol daun kelor dengan dosis 12,5 mg/kgBB, kelompok IV mencit dengan pemberian ekstrak etanol daun kelor dengan dosis 25 mg/kgBB, dan kelompok V mencit dengan pemberian ekstrak etanol dosis 50 mg/kgBB dan 30 menit kemudian hewan uji diinduksi dengan asam asetat 1%. Selanjutnya dilakukan penghitungan jumlah geliat mencit tiap 5 menit selama 1 jam.

Uji aktivitas antiinflamasi yang diinduksi karagenin 1%

Uji antiinflamasi menggunakan 25 ekor mencit umur 6-8 minggu dibagi dalam 5 kelompok dengan 5 ekor mencit perkelompok (Posadas, dkk., 2004). Kelompok I diinduksi karagenin 1% 0,02 mL s.c. pada kaki kiri belakang tetapi tidak diberikan obat, Kelompok II diinduksi karagenin 1% 0,02 mL s.c. dan diberikan natrium diklofenak 19,5 mg/kgBB i.p. Kelompok III,IV dan V masing –masing diinduksi dengan karagenin 1% 0,02 mL s.c dan ekstrak etanol daun kelor pada dosis 35 mg/kgBB, 70 mg/kgBB dan 140 mg/kgBB p.o. Volume udem pada kaki kiri belakang mencit diukur dengan pletismometer sebelum perlakuan, tiap 30 menit selama 6 jam setelah perlakuan. Selanjutnya

dilakukan pengambilan jaringan pada bagian kaki untuk selanjutnya dilakukan pewarnaan imunohistokimia untuk menentukan ekspresi COX-2 (Posadas dkk., 2004)

Metode pewarnaan imunohistokimia

Jaringan yang berasal dari bagian kaki difiksasi, dipotong dalam ukuran yang sesuai dan dicetak dengan parafin. Preparat kemudian dideparafinasi dengan xylol dan direhidrasi dengan alkohol bertingkat dan air masing-masing 5 menit. Kemudian preparat direndam di *peroxidase blocking solution* (1:9). Preparat kemudian diinkubasi dalam *prediluted blocking serum* selama 10 menit suhu 25°C. Ditambahkan antibodi monoklonal yang telah disiapkan dan diinkubasi pada suhu 25°C. Selanjutnya dicuci dengan PBS (*Phosphate Buffer Solution*) selama 5 menit, dan ditambah BUSA (*Biotinylated Universal Secondary Antibody*) dan kemudian diinkubasi 25°C, 5 menit. Preparat yang telah dicuci diinkubasi dengan PBS 10 menit, dicelup ke alkohol, dibersihkan, dicelup ke xilol. Preparat yang telah kering diperiksa dibawah mikroskop pada perbesaran 1000x. Preparat yang memperlihatkan warna coklat berarti sel yang mengekspresikan COX-2, sedangkan preparat yang menunjukkan warna biru berarti sel yang tidak diekspresikan oleh enzim COX-2.

Analisis Hasil

1. Perhitungan persentase daya analgesik

$$\% \text{ daya analgesik} = \frac{\text{JG K} - \text{JG (s)}}{\text{JG (K)}} \times 100\%$$

Keterangan:

JG (K): jumlah geliat rata-rata mencit kelompok kontrol negatif

JG (s) : jumlah geliat rata-rata mencit kelompok perlakuan

2. Daya antiinflamasi

$$\% \text{KVU} = \frac{V_t - V_o}{V_o} \times 100\%$$

Keterangan: Vt : volume udem kaki mencit pada waktu tertentu

Vo : volume normal sebelum diinduksi karagenin

$$\% \text{DAI} = \frac{\text{AUC kontrol} - \text{AUC perlakuan}}{\text{AUC kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

AUCkontrol : AUC mencit kelompok normal/tanpa induksi karagenin

AUCperlakuan: AUC mencit pada kelompok perlakuan

Data yang diperoleh diuji normalitas data menggunakan Kolmogorov-Smirnov dan uji homogenitas varian dan apabila terdapat beda nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan analisis statistik parametrik dengan metode Post Hoc Test tipe *LSD (Least Square Difference)* pada taraf signifikansi 5%.

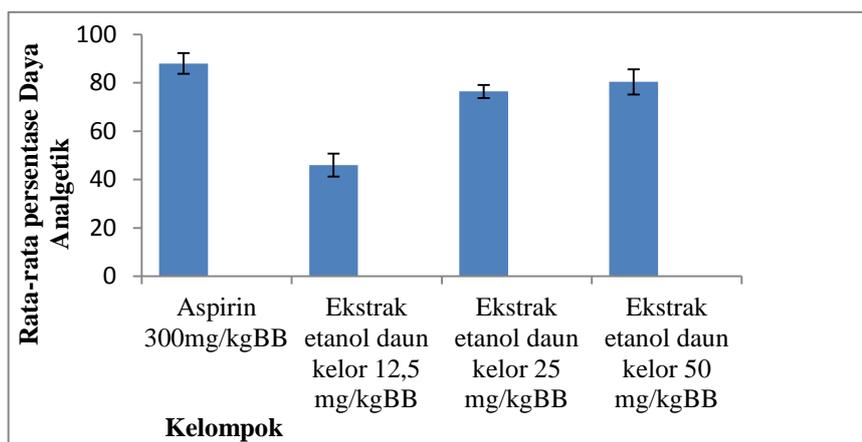
HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas analgesik

Penetapan aktivitas analgesik didasarkan atas jumlah geliat rata-rata mencit pada tiap kelompok. Jumlah geliat rata-rata pada kelompok perlakuan menggunakan ekstrak etanol daun kelor dengan kelompok kontrol positif aspirin berbeda. Hasil selengkapnya dari penelitian ini tersaji pada Tabel I.

Tabel I. Data rerata geliat mencit pada tiap kelompok perlakuan yang diinduksi asam asetat 1% (n=5)

Kelompok	Kumulatif Geliat				
	CMC Na 1%	Aspirin	Ekstrak etanol daun kelor pada dosis		
			12,5mg/kgBB	25mg/kgBB	50mg/kgBB
Rata-rata	200,2±17,78	24,0±8,62	108,0±9,46	47,20±5,47	39,2±10,41
± SE					



Gambar 1. Persentase daya analgesik mencit pada berbagai kelompok perlakuan

Berdasarkan data kumulatif jumlah geliat mencit terlihat bahwa mencit pada kelompok kontrol pelarut dengan CMC Na 1% menunjukkan jumlah geliat tertinggi dibandingkan mencit pada kelompok aspirin dan kelompok ekstrak etanol daun kelor. Hal ini menunjukkan bahwa mencit pada kelompok CMC Na 1% memberikan respon geliat yang besar dan pelarut tidak memiliki daya hambat terhadap nyeri karena induksi asam asetat. Pemberian ekstrak etanol daun kelor pada mencit menunjukkan penurunan jumlah geliat. Semakin tinggi dosis ekstrak etanol daun kelor yang diberikan jumlah geliat semakin menurun. Hal ini menunjukkan ekstrak etanol daun kelor memiliki daya hambat terhadap nyeri karena induksi asam asetat. Hasil kumulatif jumlah geliat mencit selanjutnya dirumuskan menjadi rata-rata persentase daya analgesik. Hasil perhitungan daya analgesik tersaji pada Gambar 1 dan Tabel II. Menurut Wijayanti (2013) aktivitas analgesik bahan uji ditunjukkan dengan penurunan jumlah geliat > 50% dari jumlah geliat pada perlakuan kelompok kontrol negatif.

Tabel II. Persentase daya analgesik pada berbagai kelompok

Kelompok	Persentase daya analgesik (%)			
	Aspirin 300 mg/kgBB	Ekstrak etanol daun kelor pada dosis		
		12,5mg/kgBB	25mg/kgBB	50mg/kgBB
Rata-rata ± SE	88,00 ± 4,306	46,04 ± 4,752	76,41 ± 2,734	80,41 ± 5,203

Dari hasil persentase daya analgesik menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kelor pada dosis 25 mg/kgBB dan 50 mg/kgBB memiliki daya analgesik 76,41 ± 2,73%; 80,41 ± 5,20%. Sedangkan aspirin sebagai kontrol positif memberikan daya analgesik 88,00 ± 4,30%. Uji ANAVA (p:0,05) dilanjutkan dengan LSD menunjukkan ekstrak etanol dosis 25 mg/kgBB dan 50 mg/kgBB mempunyai daya analgesik setara dengan aspirin dosis 300 mg/kgBB. Kandungan kimia kelor yang diyakini berkhasiat analgesik adalah flavonoid kuersetin yang merupakan antioksidan yang poten (Zhang dkk., 2011). Senyawa tersebut dapat tersari dengan baik dengan menggunakan etanol. Dibandingkan dengan ekstrak air daun salam yang juga memiliki kandungan utama flouretin dan kuersetin dengan metode uji yang sama, ekstrak etanol daun kelor memiliki daya analgesik yang lebih besar pada dosis yang lebih rendah. Ekstrak air daun salam memberikan daya analgesik 52,00 ± 6,51% pada dosis 50 mg/kgBB (Wijayanti, 2013) sedangkan ekstrak etanol daun kelor memberikan daya analgesik 76,41 ± 2,73% pada dosis 25 mg/kgBB. Respon nyeri geliat termasuk termasuk nyeri visceral dengan pembebasan prostaglandin sebagai mediator nyerinya maka ekstrak etanol daun kelor sebagai analgetik bekerja di perifer dengan mekanisme kerja menghambat biosintesis prostaglandin

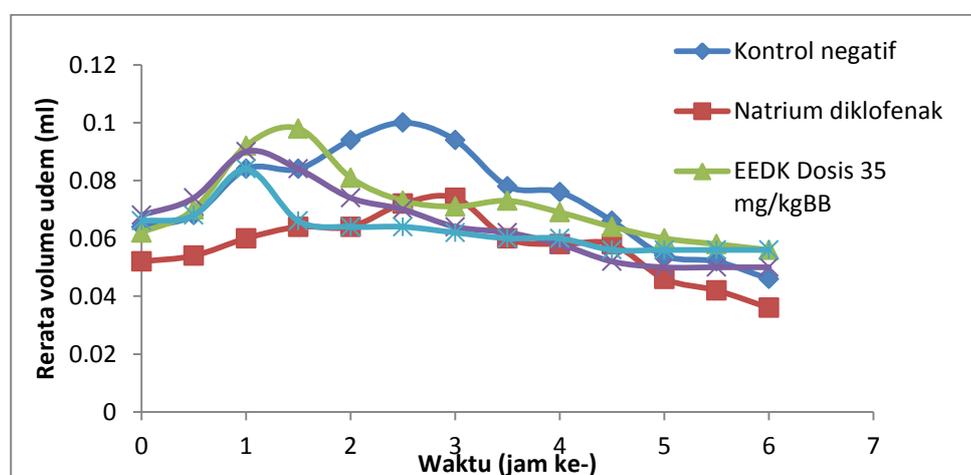
Aktivitas antiinflamasi

Uji aktivitas antiinflamasi secara *in vivo* dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor melalui pengukuran udem pada telapak kaki kiri belakang mencit dan

dilanjutkan dengan analisis ekspresi COX-2 melalui pengamatan sel neutrofil. Metode ini merupakan uji antiinflamasi akut, dengan menggunakan karagenin sebagai induktor. Karagenin yang diinjeksikan akan menyebabkan udem pada telapak kaki mencit dan cedera sel yang selanjutnya akan dilepaskan mediator yang mengawali proses inflamasi. Setelah pelepasan mediator inflamasi maksimal, terjadi udem maksimal yang mampu bertahan selama 6 jam dan selanjutnya berangsur-angsur berkurang dalam waktu 24 jam (Posadas dkk., 2004). Injeksi karagenin juga meningkatkan ekspresi COX-2, infiltrasi leukosit dan neutrofil.

Penentuan volume udem

Pengujian aktivitas antiinflamasi dilakukan untuk mengetahui daya antiinflamasi ekstrak etanol daun kelor. Hasil uji dibandingkan dengan kontrol positif natrium diklofenak. Data yang diperoleh dalam penelitian ini adalah volume udem kaki mencit dari masing-masing kelompok perlakuan. Data selanjutnya disajikan dalam bentuk kurva hubungan antara volume udem terhadap waktu seperti terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva volume udem (mL) kelompok perlakuan terhadap terhadap waktu (jam)

Pada gambar diatas terlihat bahwa volume udem pada kelompok yang diberi pelarut yaitu CMC Na paling tinggi diantara kelompok lainnya. Hal ini disebabkan CMCNa tidak memiliki kemampuan menurunkan volume udem. Natrium diklofenak sebagai kontrol positif memberikan nilai volume udem paling rendah dibandingkan semua kelompok perlakuan. Volume udem pada kelompok perlakuan ekstrak etanol daun kelor berturut-turut dari besar ke kecil sebagai berikut: dosis 35 mg/kgBB > 70 mg/kgBB > 140 mg/kgBB. Hal ini dikarenakan lebih besar dosis yang diberikan maka kandungan zat aktif berkhasiat lebih banyak sehingga kemampuan menurunkan volume udem lebih besar.

Data volume udem kemudian ditentukan AUC-nya dengan metode trapezoid. Data AUC tiap – tiap waktu pengukuran dijumlah hingga diperoleh AUC total atau AUC₀₋₆. Data AUC kelompok perlakuan kemudian dibandingkan dengan data AUC kelompok kontrol pelarut minyak untuk menetapkan persentase daya antiinflamasi.

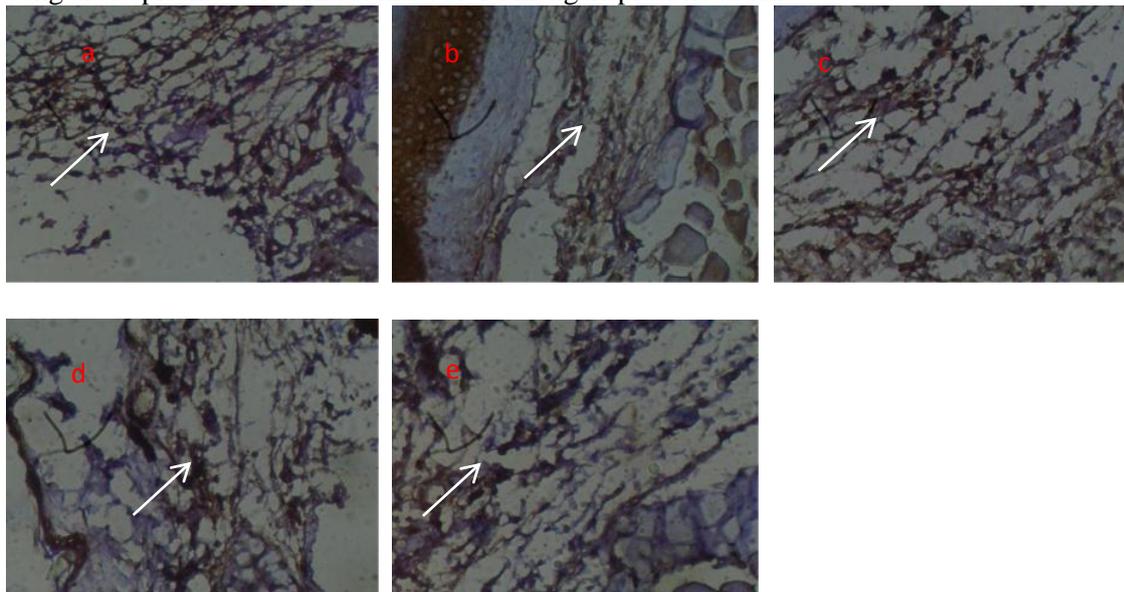
Tabel III. Nilai purata AUC dan persentase daya antiinflamasi pada kelompok perlakuan

Kelompok	Purata AUC ± SEM	Daya antiinflamasi (% ± SEM)
Kontrol pelarut (CMC Na)	0,452±0,0136	-
Natrium diklofenak dosis 19,5 mg/kgBB	0,309±0,0133	31,60±3,289
EEDK dosis 35 mg/kgBB	0,434±0,008	6,20±2,059
EEDK dosis 70 mg/kgBB	0,393±0,0124	13,03±3,078
EEDK dosis 140 mg/kgBB	0,342±0,0111	24,30±2,960

Untuk mengetahui perbedaan tiap kelompok perlakuan maka dilakukan uji statistik terhadap nilai persentase daya antiinflamasi. Hasil uji ANOVA ($p:0,05$) menunjukkan ada perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan. Uji LSD dengan *Post Hoc test* untuk ekstrak etanol daun kelor dosis 140 mg/kgBB memberikan perbedaan tidak bermakna dengan kelompok kontrol positif natrium diklofenak, sedangkan daya antiinflamasi ekstrak etanol dosis 140 mg/kgBB mendekati daya antiinflamasi natrium diklofenak.

Perhitungan ekspresi COX-2

Ekspresi COX-2 dihitung melalui jumlah sel neutrofil yang terekspresi (Syeda, dkk.,2008). Sel dengan sitoplasma berwarna coklat berarti mengekspresi neutrofil.



Gambar 3. Ekspresi COX-2 melalui neutrofil pada berbagai kelompok perlakuan

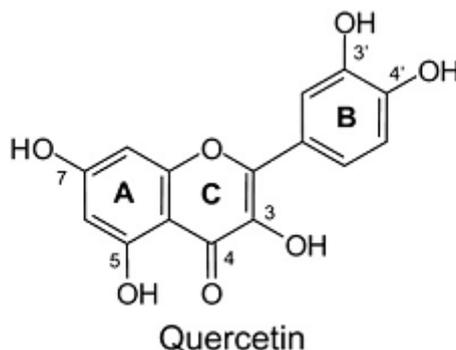
- Kelompok CMC
- Kelompok Natriumdiklofenak
- Kelompok EEDK dosis 35mg/kgBB
- Kelompok EEDK dosis 70 mg/kgBB
- Kelompok EEDK dosis 140 mg/kgBB

Tabel IV. Jumlah sel neutrofil pada 5 lapang pandang pada berbagai kelompok perlakuan

Kelompok	Purata jumlah sel neutrofil	Penurunan ekspresi COX-2 (% \pm SD)
Kontrol negatif (CMC Na)	51,46 \pm 7,342	-
Kontrol positif (Na diklofenak)	20,2 \pm 0,529	60,74 \pm 1,028
EEDK dosis 35 mg/kgBB	40,33 \pm 0,769	21,63 \pm 1,493
EEDK dosis 70 mg/kgBB	29,60 \pm 1,563	42,48 \pm 3,304
EEDK dosis 140 mg/kgBB	27,60 \pm 3,316	46,37 \pm 6,434

Hasil analisis *Post Hoc test* tipe *LSD* ($p:0,05$) terhadap penurunan ekspresi COX-2 menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok natriumdiklofenak dengan kelompok ekstrak etanol daun kelor. Untuk ekstrak etanol daun kelor dosis 70 mg/kgBB memberikan perbedaan bermakna dengan dosis 140 mg/kgBB. Penelitian Nieman (2007) menunjukkan bahwa ekstrak air daun kelor memberikan aktivitas antiinflamasi secara *invitro* dengan mekanisme penurunan kadar TNF- α melalui penghambatan NF-kB (*Nuclear Factor Kappa B*). Kandungan senyawa flavonoid dalam daun kelor diduga sebagai senyawa yang memberikan aktivitas antiinflamasi dengan

menghambat aktivitas enzim siklooksigenase. Kuersetin yang merupakan golongan flavonoid merupakan komponen bioaktif utama kelor yang memiliki mekanisme sebagai antiinflamasi (Coppin dkk, 2013). Penelitian Mediavilla dkk (2006) dan Cheong (2004) menunjukkan kuersetin dapat menghambat ekspresi COX-2. Aktivitas penghambatan COX-2 oleh kuersetin disebabkan oleh gugus 3'4' OH pada cincin B.



Gambar 4. Struktur kimia kuersetin

Mekanisme kerja ekstrak etanol daun kelor dalam menghambat ekspresi COX-2 menyebabkan asam arakhidonat tidak berubah menjadi prostaglandin endoperoksida siklik. Prostaglandin endoperoksida siklik merupakan prazat untuk semua prostaglandin sehingga biosintesis prostaglandin terhenti. Prostaglandin berfungsi untuk meningkatkan permeabilitas pembuluh darah yang menyebabkan udem dan kemosistosis neutrofil. Dengan demikian penghambatan terhadap aktivitas enzim siklooksigenase oleh ekstrak etanol daun kelor akan menurunkan volume udem dan ekspresi COX-2 melalui neutrofil.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun kelor memberikan aktivitas analgesik pada dosis 25 mg/kgBB dan 50 mg/kgBB sebesar 76,41±2,73%; 80,41± 5,20% serta daya antiinflamasi pada dosis 140 mg/kgBB sebesar 24,30±2,960% dan menurunkan ekspresi COX-2 46,37±6,434%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ditjen DIKTI Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Nomor: DIPA-023.04.1.673453 tanggal 14 November 2014 Dipa Revisi 01 tanggal 29 Pebruari 2015 yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Barali, R., Tabassum, J., and Azad, M.R.H., 2003, Chemomodulatory effect of *Moringa oleifera* L. on hepatic carcinogen meabolising enzyme, antioxidant parameters, and skin papillomagenesis in mice, *Asia Pacific Journal of Cancer Prevention*, 4:131-139.
- Cheong, E., Ivory, K., Doleman, J., Parker, M.L., Rhodes, M., & Johnson, I.T., 2004, Synthetic and naturally occurring COX-2 inhibitors suppress proliferation in a human oesophageal adenocarcinoma cell line (OE33) by inducing apoptosis and cell cycle arrest, *Carcinogenesis*, 25(1): 1945-1952.
- Coppin, J., Xu, Y., Chen, H., Pan, M., 2013, Determination of Flavonoid by LC/MS and Antiinflammatory Activity in *Moringa oleifera*, *Journal of Functional Food*, 1892-1899
- Eilert U, Wolters B & Nahrstedt A, 2007, The antibiotic principle of seeds of *Moringa oleifera* and *Moringa stenopetala*. *Journal of Medicinal Plant Research.*, 42:55-61.
- Kertia, N. 2009, Aktivitas Antiinflamasi Kurkumin Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) Kajian Klinis dan Laboratories Pengaruhnya terhadap Respon Inflamasi di dalam Cairan Sinovia Sendi Osteoarthritis, *Disertasi*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

- Mediavilla, V.G, Crespo, I., Collado, P., Esteller, A., Campos,S., Tunon, M., 2006, The anti-inflammatory flavones quercetin and kaempferol cause inhibition of inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2 and reactive C-protein, and down-regulation of the nuclear factor kappaB pathway in Chang Liver cells, *European Journal of Pharmacology*, 557: 221-229.
- Nieman, D., 2007, Quercetin's Influence on Exercise- Induced Changes in Plasma Cytokines and Muscle and Leukocyte Cytokine mRNA, *Journal of Applied Pysiology*, 103(5):1728-1735.
- Nugroho, A.E. 2012, *Farmakologi Obat - obat penting dalam Pembelajaran Ilmu Farmasi dan Dunia Kesehatan*, Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Nur,K.A., 2011, Potential Combination Chemotherapy of Kelor Leaves (*Moringa oleifera* L.) Ethanolic Extract and 5-fluorouracil on WiDr Colon Cancer Cell, *Skripsi*, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Posadas, I., Bucci, M., Roviezzo, F., Rossi,A., Parente, L., Sautebin,L., 2004, Carrageenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression, *British Journal of Pharmacology*, 142:331-38.
- Sashidara,KV., Rosaiah JN., Tyagi E., Sukhla R., Raghbir, 2009, Rare dipeptide and urea derivatives from roots of *Moringa oleifera* as potential antiinflammatory and antinociceptive agents, *European Journal of Medicine Chemistry*, 44 (1): 432-436.
- Syeda, F., Tullis, P., Slutsky, A.S., dan Zhang, H., 2008, Human neutrophils peptides upregulate expression of COX-2 and endothelin-1 by inducing oxidative stress, *American Journal of Physiology Heart Circulatory Physiology*, 294: 2769-74.
- Wijayanti, D., 2013, Efek Analgetik Ekstrak Air Daun Salam (*Syzygium polianthum*) Pada Mencit Dengan Metode Geliat, *Naskah Publikasi*, Universitas Muhamadiyah Surakarta, Surakarta.
- Zhang, M., Swarts, S.G., Yin, L., Liu, C., Tian, Y., Cao, Y, 2011, Antioxidant Properties of Quercetin, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 915:285-289.