

INTISARI

Prevalensi diabetes melitus mengalami peningkatan secara eksponensial setiap tahun dan 5-15% di antaranya mengalami luka. Luka diabetes berkaitan erat dengan proses inflamasi yang presisten. Tanaman daun sendok atau *Plantago major* L. memiliki beragam senyawa bioaktif dan telah digunakan masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengobati luka akibat peradangan. Tujuan dari penelitian ini adalah menelusuri mekanisme antiinflamasi pada ekstrak optimal *P. major* (NM, NU, DM, dan DU).

Profiling kimia dilakukan terhadap empat ekstrak etanol *P. major* dengan metode UHPLC-HRMS. Evaluasi aktivitas antiinflamasi dilakukan pada sel RAW 264.7 melalui uji viabilitas sel menggunakan metode MTT pada seri konsentrasi 1-1000 µg/mL. Rentang konsentrasi dengan viabilitas sel lebih dari 85% kemudian dievaluasi efek antiinflamasinya untuk melihat produksi NO dan ekspresi sitokin IL-1β, TNF-α, IFN-γ menggunakan uji ELISA pada sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS dengan media tinggi glukosa. Hubungan profil kandungan kimia dan aktivitas antiinflamasi dievaluasi melalui studi multivariat kemometrika dan analisis korelasi.

Hasil UHPLC-HRMS secara *targeted* pada empat ekstrak optimal menunjukkan enam senyawa utama, yaitu aucubin, plantamajoside, plantaginin, baicalein, verbascoside, dan hispidulin. Uji viabilitas menunjukkan rentang konsentrasi non toksik ekstrak pada 15,625–250 µg/mL. Uji aktivitas antiinflamasi berdasarkan produksi NO menunjukkan penurunan produksi NO secara signifikan ($p<0,05$) seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak dengan penurunan terbaik pada ekstrak DU 250 µg/mL. Produksi sitokin TNF-α, IL-1β, IFN-δ, menunjukkan penurunan secara signifikan ($p<0,05$) dengan hasil terendah secara berurutan pada ekstrak NM 62,5 µg/mL, DM 250 µg/mL, dan NU 31,25 µg/mL. Analisis multivariat kemometrik dan korelasi mengkonfirmasi korelasi positif antara senyawa aktif *P. major*, produksi NO, dan mediator pro-inflamasi. Mekanisme aksi antiinflamasi *P. major* dijelaskan melalui penekanan fosforilasi jalur NF-κB dan MAPK yang menyebabkan penurunan NO, TNF-α, IL-1β, dan IFN-δ. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak optimal *P. major* memiliki potensi yang signifikan sebagai agen antiinflamasi, khususnya dalam penanganan inflamasi pada kondisi hiperglikemi melalui penekanan jalur NF-κB dan MAPK.

Kata kunci : *Plantago major* L., Anti-inflamasi, Sel Raw 246.7, UHPLC HR-MS, Kemometrika.

ABSTRACT

The prevalence of diabetes mellitus is increasing exponentially every year, with 5-15% of patients developing wounds. Diabetic wounds are closely associated with persistent inflammatory processes. The “daun sendok” plant, or *Plantago major* L., contains a variety of bioactive compounds and has traditionally been used to treat wounds caused by inflammation. This study aimed to explore the anti-inflammatory mechanisms in optimal extracts of *P. major* (NM, NU, DM, and DU).

Chemical profiling was conducted on four ethanol extracts of *P. major* using the UHPLC-HRMS method. The anti-inflammatory activity was evaluated on RAW 264.7 cells through a cell viability assay using the MTT method, at concentrations ranging from 1 to 1000 µg/mL. Extracts showing cell viability greater than 85% were further evaluated for their anti-inflammatory effects by measuring NO production and cytokine expression (IL-1β, TNF-α, IFN-γ) using ELISA assays on LPS-induced RAW 264.7 cells in high glucose media. The relationship between the chemical content profile and anti-inflammatory activity was assessed through multivariate chemometric studies and correlation analysis.

Targeted UHPLC-HRMS results on the four optimized extracts revealed eight major compounds: aucubin, plantamajoside, plantagin, baicalein, verbascoside, hispidulin. The viability test indicated a non-toxic concentration range for the extract at 15.625-250 µg/mL. The anti-inflammatory activity test, based on NO production, showed a significant decrease in NO production ($p < 0.05$) as the extract concentration increased, with the greatest reduction observed at 250 µg/mL for the DU extract. The production of cytokines TNF-α, IL-1β, and IFN-γ showed a significant decrease ($p < 0.05$), with the lowest levels observed sequentially in NM at 62.5 µg/mL, DM at 250 µg/mL, and NU at 31.25 µg/mL. Multivariate chemometric and correlation analyses confirmed a positive correlation between the active compounds of *P. major*, NO production, and pro-inflammatory mediators. The anti-inflammatory mechanism of *P. major* was explained through the suppression of phosphorylation of NF-κB and MAPK pathways, leading to a decrease in NO, TNF-α, IL-1β, and IFN-γ. This study demonstrates that the optimal extract of *P. major* has significant potential as an anti-inflammatory agent, particularly for treating inflammation in hyperglycemic conditions by suppressing the NF-κB and MAPK pathways.

Keywords: *Plantago major* L., Anti-inflammatory, RAW 246.7 Cells, UHPLC HR-MS, Chemometric.