

Uji Gelagat dan Uji Analgesik Ekstrak Etanol Daun Kembang Sungsang (*Gloriosa superba* L) pada Hewan Coba

Pudjiastuti, Yun Astuti Nugroho

Puslitbang Biomedis dan Farmasi
 Badan Litbang Kesehatan Depkes R.I.
 e-mail: pudji_a@ymail.com
 Telp: 021-4261088 pswt 306

Abstract

Gloriosa superba L belongs to the Colchiceae family. These vine plants reach 2.5 m in height and can grow at 400 m above sea level. The leaves contain chemical compounds such as alkaloid colchisin, glorisin and triterpen which possess analgesic properties. Many studies have been conducted in the tubers of such plants but scientific information on the efficacy of the leaves as analgesic have not thus far been published. Therefore, in this work a study was conducted to test behavior and analgesic efficacy of compounds in the *Gloria superba* L. leaves extracted with ethanol. The results showed the influence on the central nervous system and analgesic effects at doses of extract for 2 mg/100g body weight of mice and it's no significant different with asetosal ($p < 0,05$).

Key Words: Behavior test, Analgesic test, *Gloria superba* L, Leaves

Pendahuluan

Kembang Sungsang adalah tanaman perdu dan merambat. Tinggi tanaman mencapai 4 m dan dapat tumbuh pada ketinggian 2500 m diatas permukaan laut. Di masyarakat penggunaan secara empiris adalah sebagai tonikum, kalagogum, purgativ, alteratif, anti arthritis, antileprotik, antihemorhoid dll. Pada umumnya penelitian dilakukan terhadap bagian umbi, akan tetapi bagian daun belum banyak informasi yang diperoleh. Hasil penelitian terhadap kandungan senyawa kimia menyatakan bahwa daun tanaman ini mengandung alkaloid dan triterpen dimana golongan ini mempunyai kasiat sebagai analgetik.^{1,2} Sedangkan hasil uji toksisitas daun Kembang sungsang dalam bentuk ekstrak etanol 70% diperoleh LD₅₀ sebesar 4,57 (3,64 – 5,77)mg/10g bobot badan ip pada mencit.³ Sehingga untuk mendapatkan data ilmiah penggunaan sebagai analgetik dilakukan uji gelagat dan uji analgesik pada hewan coba.

Uji gelagat merupakan uji yang dapat menggambarkan arah penelitian secara umum mengenai khasiat suatu bahan guna menjadi landasan untk menentukan uji - uji farmakologi selanjutnya. Uji analgesik adalah kemampuan suatu bahan uji untuk menekan rasa nyeri akibat induksi asam asam asetat atau mekanik. Suatu senyawa bersifat sebagai analgesik bila dapat meringankan atau menekan rasa sakit dalam dosis terapi.⁴

Metode

Bahan Uji

Bahan uji berupa daun Kembang sungsang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Obat Traditional Tawangmangu Solo. Daun kembang sungsang dicuci bersih dan dikeringkan dalam oven dengan panas tidak lebih dari 40°C, setelah kering bahan diserbuk dan diayak dengan ayakan Mesh no.50 dan dibuat ekstrak etanol 70% dengan cara maserasi dan perkolasi.⁵

Hewan Coba

Untuk uji gelagat digunakan mencit jantan dan betina, untuk uji analgetik digunakan mencit jantan. Berat antara 20 – 25 g strain DDY berasal dari PPOM Badan POM. Sebelum digunakan hewan diaklimatisasi selama 2 minggu dalam laboratorium

Cara Kerja Uji Gelagat.⁶

Uji gelagat menggunakan hewan coba mencit jantan dan betina. Setiap kelompok terdiri dari 3 ekor, pemberian dosis untuk tiap kelompok berdasarkan nilai LD₅₀. Dosis terbesar diberikan adalah 2/3 nya dengan pemberian bahan secara secara oral. Observasi dilakukan dengan mengamati tingkah laku hewan secara langsung setelah bahan uji diberikan selama 2 jam. Hewan diamati setelah 24 jam, 48 jam dan 72 jam untuk melihat kematian.

Uji Analgesik.⁷

Uji Analgesik mempergunakan rancangan acak lengkap dengan 5 kelompok perlakuan. Tiap kelompok terdiri dari @ 5 ekor mencit. Setiap kelompok diberi perlakuan sebagai berikut: 3 kelompok diberikan dosis bahan uji yang berbeda, satu kelompok kontrol diberi akuades dan 1 kelompok pembanding diberi asetosal. Mencit yang akan digunakan dalam percobaan, pertama-tama dilakukan uji kepekaan dahulu dengan menyuntikkan asam asetat 3% dengan dosis 300mg/kg bb. Mencit yang digunakan untuk percobaan ini adalah yang mempunyai respon geliat selama 5 menit setelah disuntik asam asetat secara intraperitoneal. Bahan uji diberikan secara oral kemudian dидiamkan selama 30 menit. Setelah itu seluruh mencit disuntik asam asetat 3% dosis 300mg/10g bb, pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah geliat setiap 5 menit selama 30 menit langsung setelah induksi asam asetat. Geliat ditandai dengan posisi mencit dengan abdomen ditekan pada dasar

tempat berpijak dan kedua kakinya ditarik ke depan. Data diuji statistik menggunakan uji Anova dan T test.

Hasil dan Pembahasan Uji Gelagat

Pada uji gelagat dilakukan pada 6 kelompok mencit @ 3 ekor, terdiri dari 3 kelompok jantan dan 3 kelompok betina. Pemberian dosis dibawah harga LD₅₀ yaitu 0,03 mg, 0,3mg dan 3 mg/10 g bb mencit. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel I.

A. Behavioral Profile

1. *Grooming*, merupakan suatu kebiasaan mencit untuk membersihkan dirinya ditandai dengan membersihkan badannya dengan menjilat-jilat, frekuensi dapat menurun menunjukkan adanya depresi terhadap ssp atau simpatolitik, sedangkan bila meningkat menunjukkan adanya sifat stimulasi ssp atau dan saraf simpatik.
2. *Spontaneous activity* (Gerakan spontan), secara normal mencit akan bergerak kesana kemari, menaikinya spontan dengan terlihat seperti berjalan cepat atau berlari terkadang dengan kecepatan tinggi merupakan adanya stimulasi ssp atau ganglia atau neuromuscular junction. Sebaliknya bila sampai mencit tertidur adanya depresi ssp.
3. *Touch respons* (Reaksi sentuhan), biasanya mencit akan bereaksi bila disentuh pada perut leher atau pinggul, sentuhan dengan menggunakan pinset atau pensil. Ketidadaan reaksi menunjukkan adanya anastesia.
4. *Pain respons* (Reaksi sakit), terlihat jika mencit akan bereaksi apabila dijepit ekornya sampai mencicit, tidak adanya reaksi menunjukkan adanya analgesia sedasi atau depresi sentral.

Grooming terlihat mulai pada dosis 0,3mg dan lebih jelas lagi pada dosis 3mg/10g bb baik terjadi pada mencit jantan dan betina. *Spontaneous activity* terjadi penurunan sudah terlihat pada dosis kecil akan lebih jelas terlihat pada kedua dosis lainnya.

Begitu pula *touch respons* menurun yang artinya pada dosis kecil sudah nampak tapi tidak sejelas jika dibandingkan kedua dosis lainnya. Pada ketiga dosis yang diberikan mencit tidak memberikan respons sakit.

Tabel 1 . Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% terhadap Pengamatan Gelagat pada Mencit.

Pengamatan	Kelompok dosis jantan /10g bb			Kelompok dosis betina/10g bb		
	0,03 mg	0,3 mg	3 mg	0,03 mg	0,3 mg	3 mg
A. Behavioral profile						
Grooming	-	turun	turun	-	turun	turun
Spontaneous activity	turun	turun	turun	turun	turun	turun
Touch respons	ada	ada	-	ada	ada	-
Pain						
B. Neurological profile						
1. Central excitasi						
Straub	-	-	-	-	-	-
Tremor	-	-	-	-	-	-
Convulsion	-	-	-	-	-	-
2. Motor incoordination						
Abduksi	-	ada	ada	-	ada	ada
Ataksia	-	-	-	-	-	-
Righting refleks	-	terlihat	terlihat	-	terlihat	terlihat
3. Reflex						
Pinna	turun	turun-	turun	turun	turun-	turun
Cornea	-	-	-	-	-	-
Epsilateral	-	-	-	-	-	-
C. Autonomic profile						
1. Optical sign						
Pupil size	membesar	membesar	membesar	membesar	membesar	membesar
Palpebra	terlihat	terlihat	terlihat	terlihat	terlihat	terlihat
Exsptalameus	-	-	-	-	-	-
2. Secretori sign						
Urination	-	ada	ada	-	ada	ada
Salivasi	-	-	-	-	-	-
Lacrimation	-	-	-	-	-	-
3. General sign						
Writhing	-	ada	ada	-	ada	ada
Piloereksi	-	-	-	-	-	-
Warna kulit	tetap	tetap	tetap	tetap	tetap	tetap

B. Neurological profile

1. Central excitasi

1. *Straub respons (Respon ketegangan)*, suatu keadaan ekor yang tegang. Kekakuan ini disebabkan adanya stimulasi ssp khususnya sumsum tulang belakang. Sehingga dapat menyebabkan ekor terlihat kaku dan tegak lurus dengan lantai.
2. *Tremor (Gemetar)*, mencit terlihat gemetar adanya stimulasi pada ssp.
3. *Convulsion (Kejang)*, mencit terlihat kejang kejang adanya stimulasi pada ssp.

Straub respons, tremor dan convulsion tidak terlihat pada ketiga dosis yang diberikan baik jantan maupun betina.

2. Motor incoordinator

1. *Abduksi*, dimana kaki terbuka, tandanya adanya depresi ssp atau neuromuscular function.
2. *Ataksia (Sempoyongan)*, adanya cara berjalan menunjukkan ada inkoordinasi dari urat daging skelet.
3. *Righting refleks (Reaksi refleks)*, kesanggupan mencit untuk membalikkan dirinya apabila diletakkan dengan punggung sebagai dasar berpijak. Ketidak mampuan membalikkan dirinya menunjukkan depresi pada susunan syaraf pusat karena pengaruh tranquilizer, dapat juga karena myorelaksan atau blokade sinaptik atau anastesia.

Reaksi abduksi terlihat pada ketiga dosis yang diberikan baik jantan maupun betina, sedang ataksia tidak nampak pada ketiga dosis yang diberikan. Righting refleks tidak terlihat ketika mencit dibalikkan dengan posisi punggung ditempat berpijak dapat kembali lagi.

3. Refleks

1. *Pinna refleks (Pina refleks)*, gerakan menghindari rangsangan pada telinga hilangnya refleks disebabkan karena

blokade bagian sensorik atau sinaps spinal pada syaraf eferent.

2. *Cornea refleks (reflek kornea)*, suatu gerakan menghindari rangsangan mekanis pada kornea mata refleks ini disebabkan karena blokade bagian sensorik atau sinaps spinal pada syaraf eferent.
3. *Reflex flexio epsilateral (Reflek epsilateral)*, bila bantalan jari kaki dipijat dengan pinset maka terlihat usaha melipat anggota badan ini. Hilangnya refleks ini disebabkan karena blokade bagian sensorik atau sinaps spinal pada syaraf eferent.

Pada pengamatan pinna refleks mencit agak menghindar ketiga diberi rangsangan dengan menyentuh telinganya, cornea refleks dan refleks epsilateral tidak terlihat adanya perubahan jika diberi rangsangan. Pengamatan terjadi pada mencit jantan maupun betina.

Autonomic profile

1. Optical sign (Perubahan alat optik)

1. *Pupil size (Besarnya pupil)*, melebarnya pupil atau midriasis adanya tanda efek adrenergik simpatomimetik atau parasimpatolitik, sebaliknya penyempitan atau miosis adanya tanda parasimpatomimetik atau kolinergik.
2. *Palpebra position (Posisi palpebra)*, kelopak mata biasanya terbuka, bila terbuka sempit atau ptosis ini merupakan tanda adanya efek tranquilizer atau sedasi, dan sebaliknya bila lebar merupakan tanda adanya efek rangsangan simpatik.
3. *Eksoptalamus*, adanya tanda efek stimulasi simpatik.

Ukuran pupil agak membesar dibandingkan dengan normal, sementara posisi palpebra dan eksoptalamus tidak terlihat adanya perubahan baik pada ketiga dosis jantan dan betina.

2. Secretoric sign

1. *Urinasi* pengeluaran air seni, adanya pengeluaran air seni yang berlebihan menunjuk kan adanya sifat muskarinik atau adanya sifat iritasi pada saluran air seni.
2. *Salivasi* pengeluaran air liur yang banyak adanya tanda-tanda muskarinik.
3. *Lakrimasi*, pengeluaran air mata yang berlebihan adanya tanda efek muskarinik

Ketiga pengamatan urinasi, salivasi maupun lakrimasi tidak terlihat pada ketiga dosis jantan maupun betina.

3. General sign (Gejala Umum)

1. *Writhing (Menggeliat)*, suatu tanda adanya iritasi pada peritonium atau pada tenunan atau reseptor sensorik. Hewan merapatkan perutnya pada dasar tempat ia berpijak karena kesakitan.
2. *Piloerection (Piloereksi)*, ditandai dengan berdirinya bulu sebagai kompensasi adanya hawa dingin, menunjukkan efek adrenergik atau adrenalin.
3. *Skin colour (Warna kulit)*, warna pucat ditandai adanya efek adrenergik atau adanya vasokonstriksi sedangkan kemerahan adanya vasodilatasi.

Pada righting refleks pada dosis 0,3 mg jarang terlihat namun pada dosis 3 mg lebih sering terjadi geliat. Sedangkan piloereksi hanya terlihat pada dosis 3mg sementara pada kulit tidak terjadi perubahan warna kulit.

4. Kematian

Kematian terlihat pada hari ke tiga terjadi pada dosis 3 mg/10 g bb. Dari pengamatan diatas *spontaneous activity, touch respons, pain* perubahan terlihat pada jelas pada 3 mg begitu pula pada pengamatan *abduksi, righting reflexs,*

pinna relexs yang mengecil, *pupil size* yang membesar dan *writhing*, dimana jelas terlihat pada dosis 3 mg. Dari informasi ini menunjukkan kecenderungan ada terhadap susunan syaraf pusat. Pada pengukuran suhu terlihat suhu menurun walaupun kurang nyata. Dari hasil pengamatan setelah 24 jam kelompok jantan dosis 3 mg mati 2 ekor sementara pada betina mati 1 ekor, dan pada pengamatan 72 jam seluruh hewan mati baik jantan maupun betina.

Uji Analgesik

Digunakan cara Witkins (1961). Dasar pemberian dosis bahan uji adalah dibawah harga LD^{50} 4,57mg/10g bb dan dosis tertinggi maksimum 2/3 nya. Pada uji gelagat pada dosis 3mg/10g bb hewan mati setelah setelah 24 jam, maka pada uji analgesik digunakan dosis lebih kecil dari 3mg yaitu 2 mg/10g bb. Pada percobaan digunakan 5 kelompok terdiri dari 3 kelompok ekstrak etanol 70% yaitu 0,2 mg, 0,6 mg dan 2 mg/10g bb, satu kelompok kontrol akuades dan pembanding asetosal 0,52mg/10g bb. Hasil uji gelagat dapat dilihat pada Tabel 2.

Sebagai pembanding digunakan asetosal. Obat ini adalah analgesik untuk mengobati nyeri yang tidak spesifik dengan kerja yang sangat luas, biasa digunakan sebagai prototype bahan standar untuk menilai obat sejenis.⁸

Pada Tabel 2 terlihat pada ekstrak Kembang sunsang dosis 0,2mg, 0,6 mg dan 2mg/10g bb jumlah rata rata geliat berturut turut adalah 6,87, 5,13, dan 2,93. Sedangkan kelompok asetosal dan akuades berturut turut 3,07 dan 8,33. Pada tabel di atas terlihat bahwa jumlah geliat tertinggi terlihat pada kelompok akuades, yang berarti dalam mempotensiasi induksi asam asetat terlihat paling rendah karena akuades tidak bersifat analgesik.

Tabel 2. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Daun Kembang Sungsang terhadap Jumlah Geliat pada Mencit Akibat Induksi Asam Asetat Selama 30 Menit.

No.	Ekst. etanol 70% daun Kembang sungsang/10g bb			Asetosal 0,52 mg/10g bb	Akuades 1ml/ekor
	0,2 mg	0,6 mg	2 mg		
1	6,33	6,17	2,50	3,83	9,00
2	6,50	5,83	2,60	2,00	9,00
3	7,00	5,33	2,67	2,83	8,33
4	6,83	3,83	3,50	3,50	7,50
5	7,67	4,50	3,33	3,17	7,83
Rata rata (± sd)	6,87 (± 0,85)	5,13 (± 0,94)	2,93 (± 0,52)	3,07 (± 0,77)	8,33 (± 2,40)

Tabel 3. Proteksi Analgesik dari Ekstrak Etanol 70% Daun Kembang Sungsang (%)

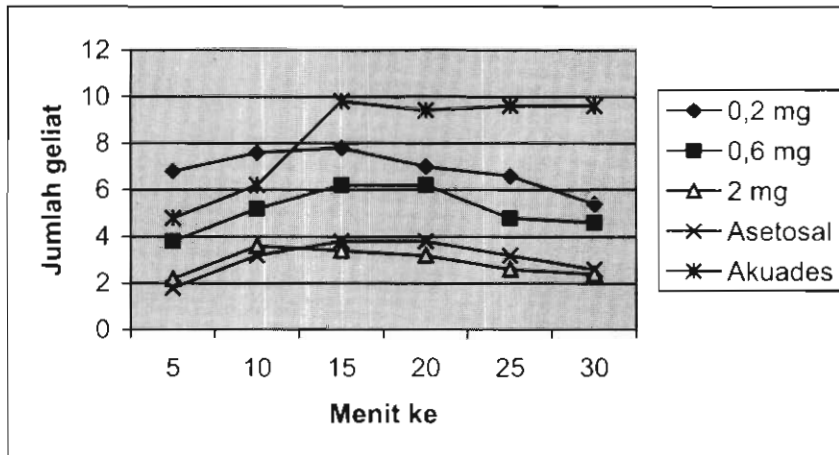
No.	Kelompok dosis /10g bb	Rata rata geliat kontrol	% Proteksi	
1	Kembang sungsang 0,2 mg	6,87	8,33	17,22
2	Kembang sungsang 0,6 mg	5,13	8,33	38,19
3	Kembang sungsang 2 mg	2,93	8,33	64,69

Pada ke tiga kelompok bahan uji terlihat jumlah geliat yang timbul sangat bervariasi dimana makin tinggi dosis yang diberikan jumlah geliat makin rendah. Terlihat ada hubungan positif antara dosis dan efek analgesik dimana makin tinggi dosis yang diberikan makin sedikit jumlah geliatnya. Secara statistik dengan uji Anova kelompok dosis 0,2 mg dan 0,6 mg mempunyai perbedaan bermakna jika dibandingkan Kembang Sungsang 2 mg maupun asetosal. ($p < 5\%$) Walaupun terlihat kelompok Kembang Sungsang 2 mg mempunyai geliat lebih tinggi dari asetosal akan tetapi secara statistik dengan Anova tidak ada ada perbedaan ($p > 5\%$) menunjukkan keduanya mempunyai potensi analgesik sama. Seperti diketahui ekstrak etanol daun Kembang Sungsang mengandung senyawa alkaloid kolkisin dan triterpen.³ Kolkisin tidak mempunyai sifat analgesik namun demikian mekanisme kerjanya adalah dengan menurunkan aktivitas fagositosis leukosit yang dapat menyebabkan terputus-

nya rangkaian reaksi peradangan sehingga respon inflamasi akan dihambat. Ini menunjukkan bahwa efek analgesik dari Kembang Sungsang tidak langsung disebabkan oleh kandungan kolkisin. Untuk mengetahui proteksi analgesik dari daun Kembang Sungsang digunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Proteksi} = \frac{100 - (\text{Rata rata geliat bahan uji} \times 100)}{\text{Rata rata geliat kontrol}} \%$$

Pada Tabel 3 terlihat % proteksi ketiga kelompok bahan uji berturut adalah 17,22%, 38,19% dan 64,69%, berarti ada hubungan antara dosis dan proteksi analgesik, makin besar dosis yang diberikan makin besar proteksinya. Pada % proteksi asetosal adalah 63,01% lebih kecil dibanding Kembang Sungsang 2 mg, namun karena secara statistik tidak berbeda maka keduanya mempunyai % proteksi sama.



Gambar 1. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kembang Sungsang terhadap Jumlah Geliat Mencit yng Diinduksi Asam Asetat Setiap 5 Menit Selama 30 Menit

Pada Gambar 1 terlihat pola kerja ketiga bahan uji adalah sama jika dibanding asetosal pada menit ke 15 terjadi peningkatan jumlah geliat dan menit berikutnya terus menurun, akan tetapi pada kelompok aquadest dengan meningkatnya waktu tidak terjadi penurunan. Untuk sementara dapat disimpulkan mekanisme kerja kembang sungsang dapat dikatakan sama dengan asetosal, yang tentunya membutuhkan konfirmasi lebih lanjut.

Kesimpulan

Hasil pengamatan uji gelagat ekstrak etanol 70% daun Kembang Sungsang berpengaruh terhadap susunan syaraf pusat dan dosis ekstrak 2mg/10g bb menunjukkan efek analgesik yang tidak berbeda dengan asetosal 0,52mg/10g bb. Ada hubungan positif antara dosis dan efek analgesik yang berarti makin besar dosis yang di-berikan makin tinggi proteksi terhadap analgesik.

Daftar Rujukan

1. Perry, Lili M, Medicinal Plant of East and Southeast Asia, The Mit Press Cambridge, Massachusetts and London, England, 1980.
2. L.S. de Padua, et all, Plant Resources of South East Asia 12 (1), Medicinal and Poisonous Plant 1. Prosea Bogor, 1999.
3. Pudjiastuti, Penelitian Pengembangan daun Kembang sungsang (*Gloriosa superba* L) Kearah Fitofarmaka Gout (*Hiperurisemia*) Laporan akhir Penelian Puslitbang Farmasi Badan Litbangkes Depkes RI, 2004.
4. Mutschler, E, Aernzeimittelwirkungen, 5 vollig neubearbeitete und erweitie Auflage. Diterjemahkan oleh Mathilda B, Anna Setianti Ranti. Dinamika obat, Penerbit ITB Bandung, 1991.
5. Direktorat Jenderal pengawasan Obat dan Makanan, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.,Dit Jen POM, Depkes Rf, 2000.
6. Turner R.A., Screening Methods in Pharmacology, Academic Press, New York and London, 1965.
7. Witkins, L., et all, J Pharmacol. Exptl. Therapy, 126, 330. Dalam Turner R.A., Screening Methods in Pharmacology, Academic Press, New York and London, 1965
8. Sulistia G.Ganiswara, Farmakologi dan terapi Edisi ke 4, Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran UI, Jakarta, 1995