

AKTIVITAS ANTIDIARE FRAKSI AIR EKSTRAK ETANOL DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.) PADA MENCIT

Kiki Damayanti^{1)*}, Risha Fillah Fithria¹, Rokhila Kamala Sari¹, Dewi Ratna Ningsih¹

¹Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi,

Universitas Wahid Hasyim, Semarang

*kiki_damayanti@yahoo.com

INTISARI

Beberapa penelitian membuktikan ekstrak dan infus daun salam sebagai antidiare. Fraksinasi dapat menyederhanakan senyawa dalam ekstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas fraksi air ekstrak etanol daun salam (FAEEDS) sebagai protektor diare yang diinduksi *castor oil*, antimotilitas usus, dan mengetahui keberadaan flavonoid dan tanin didalamnya. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan *randomized matched posttest only control group design*. FAEEDS dosis 1, 2, dan 3 g/kgBB diberikan pada mencit secara per oral. Kelompok kontrol positif yang digunakan adalah loperamid HCl 0,5 mg/kgBB dan PGA 3% 25 ml/kgBB diberikan pada kelompok kontrol negatif. Satu jam kemudian, mencit diberi *castor oil* secara per oral. Banyaknya feses cair dan tidak terbentuk yang terbentuk selama 4 jam diamati. Pengujian aktivitas antimotilitas dilakukan dengan memberikan suspensi norit 10% 10 ml/kgBB 45 menit setelah pemberian *castor oil*. Satu jam kemudian dilakukan pengukuran panjang usus yang dilalui marker norit dan panjang usus seluruhnya. Data banyaknya feses yang cair dan tidak berbentuk serta data rasio panjang usus yang dilalui norit diuji perbedaannya dengan uji Mann-Whitney dengan taraf kepercayaan 95%. Keberadaan flavonoid dan tanin diketahui melalui kromatografi lapis tipis. Hasil penelitian menunjukkan FAEEDS beraktivitas sebagai protektor diare dan antimotilitas usus pada semua dosis. Flavonoid dan tanin terkandung dalam FAEEDS.

Kata kunci: fraksi air, daun salam, protektor diare, antimotilitas, *castor oil*, loperamid HCl

ABSTRACT

Some research proves extracts and infusion of salam leaf as antidiarrheal. Fractination can simplify the compounds in the extract. The aim of this research is to know the diarrhea protector activity of water fraction of ethanol extract of salam leaf (WFEESL), the antimotility activity, and to verify the persence of flavonoids and tannins in the fraction. The research was an experimental study using randomized matched posttest only control group design. WFEESL doses 1, 2, and 3 g/kgBW were given to mice orally. The positive control group was given loperamide HCl 0.5 mg/kgBW. One hour later, each mouse was given 1 ml of castor oil orally. Observations were made on the weight of liquid and unformed stools that formed during 4 hours of observation. Ten percent of carbo adsorbent suspensian 10 ml/kgBW was given orally as marker to the mice in the group of antimotility activity 45 minutes after castor oil. The parameter which measure was the length of intestinal which passed by carbo adsorbent compared with the whole intestinal length. The data analyzed by Kruskal Wallis test, continued with Mann Withney test, with 95% of confidence level. The presence of flavonoids and tannins are known by thin layer chromatography. The results showed that WFEESL exhibits protective diarrhea and antimotility activity at all doses. Flavonoids and tannins are contained in WFEESL.

Keywords: water fraction, salam leaves, diarrhea protector, antimotility, castor oil, loperamide HCl

Corresponding author:

Kiki Damayanti

Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim

Jl. Menoreh Tengah X/22 Sampangan Semarang

kiki_damayanti@yahoo.com

PENDAHULUAN

Malik dan Ahmad (2013) telah melakukan kajian ilmiah penggunaan daun salam sebagai antidiare. Ekstrak etanol daun salam dalam bentuk suspensi kadar 30 % yang diberikan pada mencit sebanyak 1 ml/100 gBB diketahui mempunyai efek antimotilitas pada mencit yang diinduksi diare dengan *castor oil*, yang sebanding dengan loperamid HCl. Kesetaraan efek antimotilitas ekstrak etanol daun salam dengan loperamid HCl mendorong dilakukannya penelitian lanjutan.

Ekstrak etanol daun salam yang digunakan dalam penelitian tersebut kemungkinan masih mengandung senyawa-senyawa lain yang mungkin dapat mengganggu kerja senyawa yang bertanggung jawab terhadap efek antimotilitas. Diperlukan teknik ekstraksi lebih lanjut untuk menyederhanakan kandungan senyawa dalam ekstrak, salah satunya dengan cara fraksinasi. Peningkatan potensi ekstrak etanol daun salam diharapkan dapat terjadi setelah dilakukan fraksinasi.

Bentuk penelitian lanjutan adalah pengujian efek antimotilitas dengan metode transit intestinal dan proteksi diare yang diinduksi *castor oil* pada FAEEDS. Penelitian ini diharapkan dapat mengungkapkan mekanisme daun salam dalam bentuk fraksi air.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, menggunakan *randomized matched posttest only control group design*

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah rotary evaporator (Heidolph) dan timbangan (Ohaus). Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan galur Balb-C sehat dengan berat badan 20 – 30 g, umur 2 – 3 bulan. Daun salam diperoleh dari Gunung Pati, Semarang. Etanol 70%, dan n-heksan (Brataco) digunakan untuk menyiapkan FAEEDS. KLT menggunakan fase diam selulosa dan fase gerak berupa butanol, asam asetat, dan aquadest. Penampak bercak flavonoid adalah uap amonia dan FeCl₃ untuk tanin. Rutin dan asam galat digunakan sebagai pembanding. Uji aktivitas antidiare menggunakan *castor oil* (Sigma-Aldrich), loperamid HCl (PT. Nufarindo), dan suspensi norit 10% dalam PGA.

Jalannya Penelitian

1. Pembuatan FAEEDS

Ekstrak etanol daun salam dibuat dengan metode maserasi. FAEEDS diperoleh melalui fraksinasi langsung campuran ekstrak etanol daun salam dan air dengan n-heksan. Fraksinat yang diperoleh diuapkan dalam *rotary evaporator*.

2. Uji Aktivitas Proteksi Diare

Mencit kelompok 1 merupakan kelompok kontrol negatif yang diberi PGA 3% 25 ml/kgBB. Mencit kelompok 2 diberi loperamid HCl dosis 0,5 mg/kgBB sebagai kelompok kontrol positif. Kelompok 3, 4, dan 5 diberi perlakuan fraksi air ekstrak etanol dengan dosis berturut-turut 1, 2, dan 3 g/kgBB. Pemberian senyawa uji dilakukan secara per oral. Setelah 60

menit, semua mencit diberi *castor oil* sebanyak 1 ml secara per oral. Banyaknya feses cair dan tidak berbentuk selama 4 jam ditimbang.

3. Uji Aktivitas Antimotilitas

Uji aktivitas antimotilitas hampir sama dengan uji aktivitas proteksi diare. Empat puluh lima menit setelah pemberian *castor oil*, mencit diberi suspensi norit. Satu jam sesudahnya, mencit dikorbkan. Panjang usus yang dilalui norit dan panjang usus seluruhnya diukur panjangnya. Jarak usus yang dilalui norit dibagi panjang usus seluruhnya dihitung untuk menetapkan rasionya.

4. Pengujian Keberadaan Flavonoid dan Tanin

FAEEDS ditimbang sebanyak 100 mg dilarutkan dalam etanol 96% 5 – 10 tetes. Larutan FAEEDS, rutin, dan asam gaa;at ditotolkan pada lempeng selulosa, kemudian dielusi dengan fase gerak. Fase gerak untuk elusi FAEEDS dan rutin adalah asam asetat 15%, sedangkan untuk elusi FAEEDS dan asam tanat adalah campuran butanol, asam asetat, dan akuades (3:1:1). Lempeng selulosa dikenai penampak bercak setelah elusi selesai. FAEEDS dinyatakan mengandung flavonoid bila bercak FAEEDS warnanya menguat setelah diuapi amonia (Harborne, 1987). Keberadaan tanin dalam FAEEDS dinyatakan apabila bercak FAEEDS berwarna kebiruan setelah disemprot FeCl_3 (Evans dan Trease, 2002).

5. Analisis Hasil

Data berupa banyaknya feses cair dan tidak berbentuk dan rasio panjang usus yang dilalui norit dengan panjang usus seluruhnya disajikan sebagai rata-rata \pm standart error of mean (SE). Perbedaan data diuji dengan uji Kruskal Wallis, dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney dengan taraf kepercayaan 95%. FAEEDS dinyatakan mempunyai aktivitas protektor bila banyaknya feses cair dan tidak berbentuk pada mencit yang diberi FAEEDS lebih kecil secara bermakna dibanding kelompok kontrol negatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun salam termasuk tanaman Indonesia yang banyak dieksplorasi dan diketahui mempunyai aktivitas sebagai antidiare dalam bentuk ekstrak dan infus Malik dan Ahmad, 2013; Sundari dan Masruhen, 2010). Penelitian ini menggunakan daun salam dalam bentuk fraksi air dengan tujuan mengeksplorasi kandungan daun salam yang bersifat polar. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi penelitian perintis dalam rangka penemuan senyawa dalam daun salam yang berperan terhadap aktivitasnya sebagai antidiare.

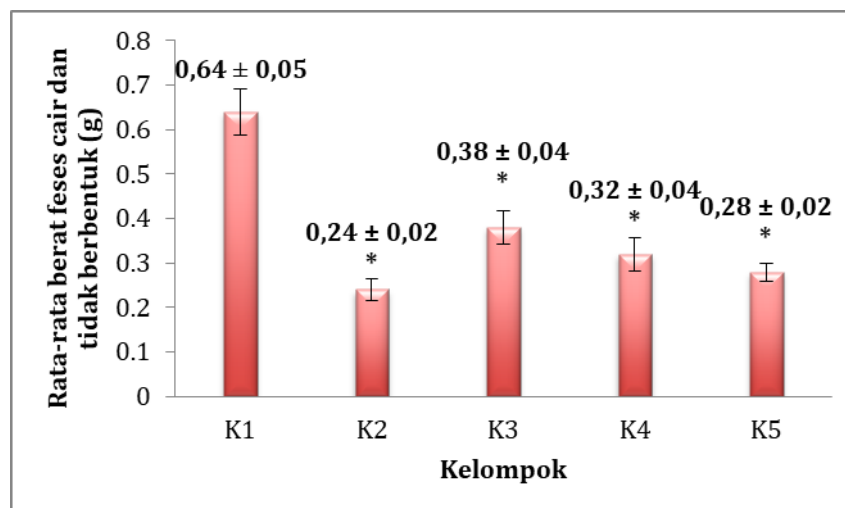
Beberapa metode dapat digunakan untuk menginduksi diare pada tikus dan mencit. Mikroorganisme berupa *Vibrio cholerae* dan *Escherichia coli* dapat digunakan untuk menginduksi diare pada hewan uji (Law *et al.*, 2013 dan Sawasvirojwong *et al.*, 2013). Jenis diare yang terjadi akibat paparan mikroorganisme tersebut adalah diare eksudatif. Pemberian magnesium sulfat dan *castor oil* dapat digunakan untuk menginduksi diare. Salah satu mekanisme yang mendasari terjadinya diare akibat pemberian kedua zat tersebut adalah kemampuannya meningkatkan peristaltik usus. *Castor oil* lebih unggul dibandingkan magnesium sulfat karena durasi diare yang ditimbulkannya lebih lama dibandingkan zat peningkat motilitas yang lain (Oh dan Ryu, 2011). Keunggulannya menjadi pertimbangan pemilihan *castor oil* sebagai penginduksi diare pada penelitian ini.

Mencit dibuat diare dengan pemberian *castor oil*. Lipase dalam usus akan mengubah *castor oil* menjadi asam risinoleat yang akan melepaskan nitrit oksida, sehingga meningkatkan permeabilitas membran gastrointestinal terhadap kalsium. Asam risinoleat juga menstimulasi sintesis prostaglandin, kemudian menyebabkan peningkatan cairan dan elektrolit ke dalam lumen usus. Peningkatan peristaltik usus dapat dipicu oleh asam risinoleat (Kaur *et al.*, 2014). Rangkuman

data rata-rata berat feses cair dan tidak terbentuk pada semua kelompok perlakuan terdapat pada gambar 1.

Rata-rata berat feses yang cair dan tidak terbentuk pada kelompok mencit yang diberi PGA 3% sebesar 0,64 gram, sedangkan pada kelompok mencit yang diberi loperamid HCl hanya sebesar 0,24 gram. Secara statistik terdapat perbedaan berat feses cair dan tidak terbentuk pada kedua kelompok tersebut ($p < 0,05$). Rata-rata berat feses cair dan tidak terbentuk pada kelompok mencit yang diberi fraksi air ekstrak etanol daun salam dosis 1, 2, dan 3 g/kgBB berturut-turut sebesar 0,38; 0,32; dan 0,28 gram, lebih kecil secara bermakna dibandingkan dengan kelompok mencit yang hanya diberi PGA 3%. Hal ini menunjukkan bahwa FAEEDS mempunyai efek memproteksi diare pada dosis 1, 2, dan 3 g/kgBB. Berdasarkan hasil analisa statistik, diketahui pula bahwa FAEEDS dosis 2 dan 3 g/kgBB mempunyai efek proteksi diare yang setara dengan loperamid HCl.

Rasio panjang usus yang dilalui norit dibandingkan panjang usus mencit seluruhnya pada kelompok kontrol negatif lebih besar dibandingkan kelompok lainnya. Rangkuman hasil uji aktivitas antimotilitas terdapat pada tabel I. Rasio panjang usus yang dilalui norit dibandingkan panjang usus mencit seluruhnya (R) pada kelompok yang diberi loperamid HCl nilainya paling kecil. R pada kelompok mencit yang diberi FAEEDS semakin menurun seiring dengan penambahan dosis. Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa R kelompok yang diberi FAEEDS dosis 1, 2, dan 3 g/kgBB lebih kecil secara signifikan dibandingkan kelompok yang hanya diberi suspensi gom arab. Hasil analisa statistik tersebut menunjukkan bahwa FAEEDS pada semua dosis mempunyai aktivitas antimotilitas. Penelaahan lebih lanjut mengenai aktivitas antimotilitas FAEEDS dibandingkan loperamid HCl, diketahui bahwa FAEEDS aktivitas antimotilitasnya tidak sekuat loperamid HCl.



Keterangan:

K1 : kelompok yang diberi gom arab 3% 25 ml/kgBB

K2 : kelompok yang diberi loperamid HCl 0,5 mg/kgBB

K3 : kelompok yang diberi FAEEDS 1 g/kgBB

K4 : kelompok yang diberi FAEEDS 2 g/kgBB

K5 : kelompok yang diberi FAEEDS 3 g/kgBB

* : berbeda bermakna dibandingkan K1 ($p < 0,05$)

Gambar 1. Rata-rata berat feses cair dan tidak terbentuk berbagai kelompok perlakuan

Tabel I. Aktivitas Antimotilitas FAEEDS

Perlakuan	Rata-Rata R ± SE
Suspensi gom arab 3% 25 ml/kgBB	0,554 ± 0,009
Loperamid HCl 0,5 mg/kgBB	0,284 ± 0,006*
FAEEDS 1 g/kgBB	0,507 ± 0,011*
FAEEDS 2 g/kgBB	0,404 ± 0,002*
FAEEDS 3 g/kgBB	0,347 ± 0,004*

R: rasio panjang usus yang dilalui norit dibandingkan panjang usus mencit seluruhnya

* : berbeda bermakna dibandingkan kelompok kontrol negatif (p<0,05)

Melalui KLT, keberadaan flavonoid dan tanin dalam FAEEDS dinyatakan positif. Warna bercak FAEEDS yang terpisah setelah dielusui menguat warnanya setelah diuapi amonia, demikian juga dengan bercak rutin. Bercak FAEEDS dan asam galat yang terelusui dengan fase gerak campuran butanol, asam asetat, dan akuades menjadi kecoklatan setelah disemprot dengan FeCl₃.

Aktivitas antidiare FAEEDS dengan mekanisme proteksi diare dan sifatnya sebagai antimotilitas diduga dikarenakan kandungan metabolit sekundernya yaitu flavonoid dan tanin. Flavonoid berperan sebagai antidiare dengan cara meningkatkan reabsorpsi air dan elektrolit dalam usus serta menghambat motilitas usus (Palombo, 2006). Tanin berkontribusi terhadap efek antidiare karena kemampuannya memperbaiki sel epitel usus, menghambatsekresi cairan dalam usus, dan aktivitas antioksidannya yang tinggi (Ren *et al.*, 2011). Asam tanat yang dibuat kompleks dengan gelatin terbukti mengurangi efek gastroenteritis akut pada pasien dewasa pada 48 jam pertama setelah pemberian (Ruszcynski *et al.*, 2014).

KESIMPULAN

FAEEDS mempunyai aktivitas antidiare dengan mekanisme sebagai antimotilitas dan sebagai proteksi diare. Aktivitas antidiare FAEEDS diduga berasal dari flavonoid dan tanin yang terkandung di dalamnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Evans, W.C. and Trease, G.E., 2002, *Trease and Evans Pharmacognosy*, 15th Edition, Saunders, Philadelphia
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Penerbit ITB, Bandung, 10 – 15
- Kaur, M., Singh, A., and Kumar, B., 2014, Comparative Antidiarrheal and Antiulcer Effect of The Aqueous and Ethanolic Stem Bark Extract of *Tinospora cordifolia* in Rats, *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, **5 (3)**, 122 – 128
- Law, R.J., Gur-Arie, L., Rosenshine, I., and Finlay, B.B., 2013, In Vitro and In Vivo Model Systems for Studying Enteropathogenic *Eschericia coli* Infections, *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, **3 (3)**, 1 – 16
- Malik, A. and Ahmad, A.R., 2013, Antidiarrheal Activity of Ethanolic Extract of Bay Leaves (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.), *International Research Journal of Pharmacy*, **4 (4)**, 106 – 108
- Oh, S. and Ryu, B., 2011, Experimental Studies on The Antidiarrheal Effects of Anjang-san, *The Journal of Korean Oriental Medicine*, **32 (6)**, 54 – 66

- Palombo, E.A., 2006, Phytochemicals from Traditional Medicinal Plants Used in The Treatment of Diarrhoea: Modes of Action and Effects on Intestinal Function, *Phytotherapy Research*, **20 (9)**, 717 – 724
- Ren, A., Zhang, W., Thomas, H.G., Barish, A., Berry, S., Kiel, J.S., and Naren, A.P., 2011, A Tannic Acid-Base Medical Food, Casinex[®], Exhibits Broad-Spectrum Antidiarrheal Properties: A Mechanistic and Clinical Study, *Digestive Disease and Sciences*, **57 (1)**, 99 – 108
- Ruszczynski, M., Urbanska, M., and Szajewska, H., 2014, Gelatin Tannate for Treating Acute Gastroenteritis: A Systematic Review, *Annals of Gastroenterology*, **27 (2)**, 121 – 124
- Sawasvirojwong, S., Srimanote, P., Chatsudthipong, V., and Muanprasat, C., 2013, An Adult Mouse Model of *Vibrio cholera*-Induced Diarrhea for Studying Pathogenesis Potential therapy of Cholera, *PloS Neglected Tropical Disease*, **7 (6)**, 1 – 10
- Sundari dan Masruhen, 2010, Studi Beberapa Dosis Infus Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight Walp) sebagai Antidiare pada Mencit (*Mus musculus*), *Farmasains*, **1 (1)**, 1 – 7