

AKTIVITAS STIMULANSIA EKSTRAK ETANOL BUNGA DAN DAUN CENGKEH (*Syzygium aromaticum* (L) Merr. & Perry.) PADA MENCIT JANTAN GALUR SWISS BESERTA IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA AKTIFNYA

Yance Anas¹⁾, Niken Puspitasari¹⁾, Maulita Cut Nuria¹⁾

¹⁾ Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang

INTISARI

Salah satu khasiat cengkeh yang digunakan oleh masyarakat adalah sebagai stimulan. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek stimulan ekstrak etanol daun dan bunga cengkeh melalui uji aktivitas lokomotorik pada mencit jantan galur Swiss dan mengidentifikasi golongan senyawa aktifnya. Penelitian ini menggunakan *pretest and posttest control group design*. Metode yang digunakan adalah *hole-board* dan *open-field test*. Sebanyak 32 mencit dibagi menjadi 8 kelompok perlakuan. Mencit kelompok I (kontrol negatif) mendapat perlakuan dengan CMC Na 1% 25 mL/kgBB. Kelompok II merupakan kelompok kafein dimana mencit mendapat perlakuan dengan kafein 25 mg/kgBB. Enam kelompok perlakuan lainnya mendapatkan perlakuan dengan ekstrak etanol bunga dan daun cengkeh (100, 200, dan 400) mg/kgBB). Data yang diamati adalah jumlah jengukan mencit ke dalam *hole-board box* selama 5 menit dan waktu pergerakan mencit dalam *open-field box* selama 5 menit. Sebelum dan setelah perlakuan dengan senyawa uji. Data dianalisa dengan uji T berpasangan ($p > 0,95$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga dan daun cengkeh memiliki khasiat sebagai stimulan dengan cara meningkatkan aktivitas lokomotorik mencit jantan galur Swiss pada metode *hole-board* ($p < 0,05$). Pemberian ekstrak etanol bunga dan daun cengkeh (100-400) mg/KgBB dapat meningkatkan rasa keingintahuan dan eksplorasi mencit jantan galur Swiss tanpa meningkatkan aktivitas perpindahan/pergerakan. Senyawa aktif golongan terpenoid dan alkaloid dalam ekstrak etanol daun dan bunga cengkeh diduga bertanggung jawab terhadap peningkatan aktivitas lokomotorik mencit jantan galur Swiss.

Kata kunci : Ekstrak etanol bunga dan daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L) Merr. & Perry.), stimulan, aktivitas lokomotorik, *hole-board*, *open field*, terpenoid, alkaloid

ABSTRACT

One of the clove properties is as a stimulant. The purposes of this experimental study were to investigate stimulant effect of clove's buds and leaves ethanol extracts through locomotoric activity studies on male Swiss strain mice and to identify its active compounds. The experiment was performed with pretest and posttest control group design. Thirty two mice were divided into eight treatment groups. Locomotoric activity study was performed with hole-board and open-field method. Mice in group I (negative control) provide orally CMC-Na 1% 25 mL/kg BW. Mice in group II (caffeine group) provided orally caffeine 25 mg/kg BW. Six other treatment groups provide clove's buds and leaves ethanol extracts (100, 200, and 400) mg/kg BW respectively. Frequency of mice head-deeping into holes in the floor and duration of movement in 5 minutes were accessed before and after treatment with extract. Data analyzed using paired-sample T test ($p > 0,95$). The result showed clove's buds and leaves ethanol extracts to have stimulant properties on male Swiss strain mice through enhancing locomotoric activity in hole-board method ($p < 0,05$). Clove's buds and leaves ethanol extracts (100, 200 and 400) mg/Kg BW treatment on male Swiss strain mice can significantly increase mice head-deeping frequency into holes in the floor and exploratory behavior ($p < 0,05$). There was no significant different on mice duration movement ($p > 0,05$). Terpenoid and alkaloid active compounds in clove's buds and leaves ethanol extracts though to play an important role in enhancing male Swiss strain mice locomotoric activities.

Keywords : Cloves' buds and leaves (*Syzygium aromaticum* (L) Merr. & Perry.) ethanol extracts, stimulant, locomotoric activity, hole-board, open field, terpenoid, alkaloids

PENDAHULUAN

Stimulan adalah suatu senyawa aktif yang dapat mengurangi rasa kantuk dan meningkatkan kewaspadaan. Stimulan yang

beredar dimasyarakat tersedia dalam bentuk minuman atau sediaan obat. Tidak jarang stimulan yang beredar saat ini merupakan senyawa aktif yang merugikan bagi kesehatan. Salah satu stimulan yang paling

banyak digunakan oleh masyarakat adalah kafein. Kafein mempunyai efek samping dapat menyebabkan ketergantungan pada pemakainya. Konsumsi kafein dalam dosis besar menyebabkan sindrom *caffeinism* dengan gejala gelisah, agitasi, kecemasan, dan insomnia. Sebagian besar penderita *caffeinism* mengalami gangguan pada gastrointestinal dan gangguan pada jantung (Boutrel dan Koob, 2004).

Banyak tanaman di Indonesia yang mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai stimulasi baru. Salah satu dari tanaman tersebut adalah cengkeh. Indonesia dikenal sebagai negara penghasil dan sekaligus sebagai konsumen cengkeh terbesar di dunia. Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L) Merr. & Perry.) merupakan tanaman rempah yang sejak lama digunakan dalam industri rokok kretek, makanan, minuman dan obat-obatan. Bagian tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk keperluan di atas adalah bunga, tangkai bunga dan daun cengkeh (Nurdjannah, 2004).

Berdasarkan *review* yang disusun oleh Kumar *et al.* (2011), cengkeh mempunyai banyak khasiat, diantaranya sebagai antibakteri, antivirus, antifungi, antiplatelet, antikanker, antihistamin, dan antioksidan. Minyak cengkeh banyak digunakan sebagai obat sakit gigi karena mengandung beta kariofilen yang berkhasiat anestetik lokal. *Materia Medika Indonesia* edisi 5 juga menyebutkan beberapa khasiat lain dari cengkeh, yaitu sebagai aromatik, karminatif dan stimulasi (Depkes, RI., 1989). Namun demikian, belum banyak ditemukan penelitian ilmiah yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya yang membuktikan kebenaran khasiat cengkeh tersebut, khususnya khasiat stimulasi daun dan bunga cengkeh.

Penelitian terdahulu mengungkap bahwa salah satu efek dari senyawa aktif golongan alkaloid adalah sebagai stimulasi. Beberapa senyawa alkaloid tersebut yang telah diketahui secara luas mempunyai aktivitas stimulasi adalah kafein, kokain, dan nikotin (Samuelsson, 1999). Jenkins, *et al.* (1967) telah mengidentifikasi adanya kandungan alkaloid dalam tanaman cengkeh. Selain itu, tanaman cengkeh juga mengandung eugenol (salah satu senyawa golongan terpenoid) yang diduga berperan meningkatkan aktivitas lokomotorik. Penelitian Tao, *et al.* (2005) menyebutkan bahwa eugenol dalam *rhizoma Acori graminei* mempunyai aktivitas mirip antidepresan.

Penelitian ini mencoba mengungkap khasiat stimulasi daun dan bunga cengkeh yang dibuat dalam bentuk ekstrak melalui uji praklinik menggunakan hewan percobaan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah mengenai khasiat tanaman cengkeh sebagai stimulasi. Pengungkapan kandungan senyawa

aktif dalam ekstrak etanol daun cengkeh diharapkan dapat digunakan sebagai informasi awal yang dapat dimanfaatkan oleh peneliti selanjutnya untuk menemukan senyawa stimulant baru yang lebih aman dikonsumsi oleh manusia..

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan pendekatan *pretest and posttest control group design* menggunakan hewan coba sebagai subyek penelitian. Parameter ada atau tidaknya efek stimulasi dilakukan dengan mengamati adanya peningkatan aktivitas lokomotorik mencit jantan galur Swiss sebelum dan sesudah diberi ekstrak etanol daun dan bunga cengkeh. Metode uji aktifitas lokomotorik dilakukan dengan metode *hole-board* dan *open-field test*.

Bahan penelitian

Bahan uji yang digunakan adalah bunga dan daun cengkeh tua yang telah dikeringkan, diperoleh dari Perkebunan Cengkeh Zanzibar, Kalisidi, Gunung Pati, Semarang. Cairan penyari yang digunakan dalam pembuatan ekstrak bunga dan daun cengkeh adalah etanol 70 % teknis (Brataco). Bahan-bahan lain yang digunakan adalah kafein (Sigma), terpineol (Merck), CMC-Na, dan akuades (Laboratorium Kimia Farmasi Analisa Universitas Wahid Hasyim Semarang), Toluena p.a (Merck) dan etil asetat p.a (Merck), lempeng silika gel 60 F₂₅₄ p.a (Merck), metanol p.a (Merck) dan ammoniak p.a (Merck), reagen Dragendorff. Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan galur Swiss umur 2 bulan dengan berat badan 20-30 gram.

Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk pembuatan simplisia dan ekstraksi adalah oven, *moisture balance* (Orpus), seperangkat alat maserasi, *rotary evaporator* (Buchi), alat-alat gelas, timbangan elektrik (Ohaus). Alat untuk uji aktivitas stimulasi yaitu timbangan hewan uji (Acis), spuit 1,0 mL, jarum peroral untuk mencit, kandang percobaan (*open field box* dan *hole-board box*) (Laboratorium Farmakologi dan toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim) dan kamera perekam (Panasonic DMC F3). Alat untuk uji KLT menggunakan bejana KLT, botol semprot deteksi, lampu UV 254 nm dan 365 nm.

Jalan Penelitian

Pembuatan ekstrak etanol daun dan bunga cengkeh

Sebanyak 200 gram serbuk bunga cengkeh dimaserasi dengan 2000 mL pelarut etanol 70%. Pelarut tersebut dibagi menjadi dua bagian, untuk maserasi pertama sebanyak 75%, dan untuk

remaserasi sebanyak 25%. Maserasi tahap pertama dilakukan dengan merendam simplisia dalam cairan penyari, wadah ditutup dan dibiarkan selama tiga hari terlindung dari cahaya matahari sambil sering diaduk. Setelah tiga hari, campuran tersebut diserkai, diperas, dipisahkan filtrat (1) dan ampasnya. Selanjutnya, dilakukan remaserasi menggunakan sisa cairan penyari dengan proses yang sama seperti maserasi tahap pertama. Campuran didiamkan selama dua hari, setelah itu dipisahkan filtrat (2) dan ampasnya. Ampas dibuang, filtrat (1) dan filtrat (2) dicampur. Maserat yang didapatkan kemudian dikentalkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu tidak lebih 60°C hingga didapatkan ekstrak kental. Pembuatan ekstrak daun cengkeh dilakukan dengan cara yang sama dengan pembuatan ekstrak bunga cengkeh. Ekstrak etanol bunga dan daun cengkeh yang diperoleh selanjutnya dikumpulkan dan diukur bobotnya untuk menghitung rendemen yang dihasilkan.

Uji Aktivitas Lokomotorik dengan Metode *Hole-Board* dan *Open-Field*

Tiga puluh dua ekor mencit dibagi menjadi 8 kelompok secara acak. Kelompok I merupakan kelompok kafein (kontrol positif), mencit diberi perlakuan dengan kafein 25 mg/kgBB. Kelompok II adalah kelompok kontrol negatif, mencit diberi perlakuan dengan CMC Na 1% 25 mL/kgBB. Kelompok III-VIII adalah kelompok perlakuan, mencit mendapat perlakuan dengan ekstrak etanol bunga dan daun cengkeh (100, 200, dan 400 mg/kgBB).

Seluruh mencit diadaptasikan dalam lingkungan laboratorium selama 7 hari. Selanjutnya, mencit dipuaskan selama 18 jam dengan tetap diberi air minum *ad libitum*. Mencit dimasukkan ke dalam *hole-board box* selama lima menit untuk mendapatkan data jumlah jengukan mencit sebelum diberi perlakuan dengan larutan uji (*pretest*). Tahap berikutnya, mencit diberi larutan uji sesuai dengan kelompoknya masing-masing dan didiamkan selama 45 menit. Setelah itu, mencit dimasukkan ke dalam *hole-board box* dan dihitung jumlah jengukan mencit ke dalam lubang *hole-board box* selama lima menit (*post-test*). Pengamatan data dilakukan dengan menggunakan kamera perekam.

Jalannya uji aktivitas lokomotorik dengan metode *open field* sama dengan metode *hole-board*. Data yang diamati pada metode *open-field* adalah total pergerakan mencit selama lima menit.

Identifikasi Senyawa Aktif Golongan Terpenoid dan Alkaloid dengan Metode KLT

Identifikasi golongan senyawa aktif dalam penelitian ini hanya mengacu pada senyawa yang telah terbukti sebagai stimulasi yaitu golongan alkaloid (kafein, nikotin dan kokain) dan terpenoid

(Tao, *et.al.*, 2005). Pada identifikasi senyawa aktif golongan terpenoid, cara bejana kromatografi dijenuhkan terlebih dahulu dengan fase gerak toluen : etil asetat (93:7) (Soemarno, 1989). Ekstrak etanol bunga dan daun cengkeh serta terpineol (pembanding) ditotolkan pada lempeng KLT silica gel 60 F₂₅₄ p.a, kemudian dilusi dengan fase gerak sepanjang 8,0 cm. Selanjutnya, lempeng KLT diambil, dikeringkan, diamati pada sinar UV λ_{254} nm, λ_{365} nm dan visibel. Bercak dideteksi dengan penampak bercak vanilin-asam sulfat (Soemarno, 1989). Dari bercak yang terdeteksi, selanjutnya dilakukan perhitungan harga *retardation factor* (Rf) masing-masing bercak dan dibandingkan.

Pengujian senyawa alkaloid dilakukan dengan cara yang sama dengan pengujian senyawa terpenoid. Fase gerak yang digunakan adalah metanol : amoniak (100:1,5) dengan penampak bercak reagen dragendorff. Dalam hal ini, kafein digunakan sebagai baku pembanding (Harborne, 1973).

Data dan Analisis Data

Uji Aktivitas Lokomotorik

Data yang diperoleh pada uji aktivitas lokomotorik adalah dengan metode *hole-board* dan *open-filed test* adalah jumlah jengukan dan total waktu pergerakan mencit (detik). Parameter yang menunjukkan adanya efek stimulasi adalah apabila adanya peningkatan aktivitas lokomotorik mencit jantan galur Swiss setelah mendapat perlakuan dengan ekstrak etanol daun dan bunga cengkeh. Pada metode *hole-board*, jumlah jengukan mencit ke dalam lubang *hole-board box* selama 5 menit setelah pemberian larutan secara signifikan lebih banyak dibandingkan sebelum pemberian larutan uji ($p<0,05$). Sedangkan pada metode *open field*, total waktu pergerakan mencit sesudah pemberian ekstrak etanol daun dan bunga cengkeh lebih lama dibandingkan sebelum pemberian larutan uji secara statistik ($p<0,05$). Uji statistik yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji T berpasangan dengan tujuan untuk membandingkan data sebelum dan setelah pemberian larutan uji. Taraf kepercayaan yang digunakan adalah 95 %. Adanya perbedaan yang bermakna ditandai dengan nilai signifikansi ($p<0,05$).

Rasio Peningkatan Aktivitas Lokomotorik

Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun dan bunga cengkeh terhadap peningkatan aktivitas lokomotorik mencit jantan galur Swiss juga dapat dibuktikan dengan menghitung rasio data setelah dan sebelum perlakuan. Rumus yang digunakan

dalam perhitungan rasio peningkatan aktivitas lokomotorik adalah sebagai berikut :

$$\text{Rasio Peningkatan Aktivitas Locomotorik} = \frac{\text{data posttest}}{\text{data pretest}}$$

HASIL PENELITIAN

Pembuatan Ekstrak Etanol Bunga dan Daun Cengkeh

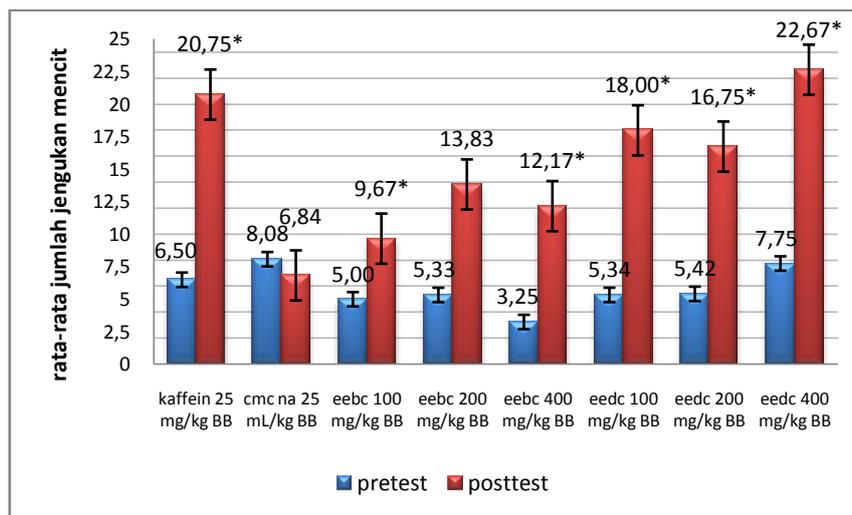
Kadar air hasil pengeringan simplisia bunga dan daun cengkeh berturut-turut adalah sebesar 0,8 % dan 3,0 %. Oleh karena itu, hasil pengeringan simplisia dianggap baik karena kadar air yang tersisa pada simplisia kurang dari 10%, sehingga mutu simplisia terjamin (Hossain, 2012). Bunga dan daun cengkeh yang telah kering secara terpisah diblender hingga halus dan diayak untuk menyamakan ukuran partikelnya. Hal ini dilakukan untuk meningkatkan luas permukaan simplisia yang kontak dengan cairan penyari sehingga dapat meningkatkan efektifitas proses ekstraksi (Depkes, RI, 1986).

Ekstrak kental bunga dan daun cengkeh yang dihasilkan dalam penelitian ini berturut-turut adalah sebanyak 67,65 gram (rendemen 33,82 %) dan 65,89 gram (rendemen 32,95%). Secara makroskopik ekstrak etanol bunga cengkeh berwarna coklat pekat, sedangkan ekstrak etanol daun cengkeh berwarna hitam kehijauan dengan

bau khas cengkeh. Ekstrak kental yang diperoleh disimpan pada tempat yang terlindung dari cahaya matahari untuk mencegah reaksi degradasi senyawa aktif yang dikatalisis oleh cahaya matahari (Voigt, 1994).

Hasil Uji Aktivitas Locomotorik dengan Metode Hole-board

Data yang diukur pada uji aktivitas lokomotorik dengan metode *hole-board* adalah jumlah jengukan mencit ke dalam lubang *hole-board box* selama 5 menit. Data rata-rata jumlah jengukan mencit ke dalam lubang *hole-board box* masing-masing kelompok perlakuan sebelum dan sesudah pemberian larutan uji seperti yang tersaji pada gambar 1. Rasio peningkatan aktivitas lokomotorik mencit jantan galur Swiss yang mendapat perlakuan dengan ekstrak daun dan bunga cengkeh dapat dilihat pada tabel I.



Gambar 1. Rata-rata jumlah jengukan mencit tiap kelompok selama 5 menit. eebc : ekstrak etanol bunga cengkeh eedc : ekstrak etanol daun cengkeh *Hasil Uji T berpasangan menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dengan data sebelum perlakuan larutan uji (*pretest*) ($p < 0,05$).

Tabel I. Rasio peningkatan aktivitas lokomotorik pada metode *hole-board*

Kelompok Pemberian	Rata-rata Jumlah Jengukan Mencit		Rasio
	Pretest	Posttest	
kafein 25 mg/kgBB	6,50 ± 0,866	20,75 ± 2,301	3,19
CMC Na 25 mL/kgBB	8,08 ± 3,162	6,83 ± 0,833	-
ekstrak etanol bunga cengkeh dosis 100 mg/kgBB	5,00 ± 0,912	9,67 ± 0,932	1,93
ekstrak etanol bunga cengkeh dosis 200 mg/kgBB	5,33 ± 0,235	13,83 ± 3,031	-
ekstrak etanol bunga cengkeh dosis 400 mg/kgBB	3,25 ± 0,762	12,17 ± 2,620	3,74
ekstrak etanol daun cengkeh dosis 100 mg/kgBB	5,34 ± 0,451	18,00 ± 2,041	3,37
ekstrak etanol daun cengkeh dosis 200 mg/kgBB	5,42 ± 1,979	16,75 ± 1,796	3,09
ekstrak etanol daun cengkeh dosis 400 mg/kgBB	7,75 ± 1,863	22,67 ± 3,618	2,93

Keterangan : (-) Hasil uji T berpasangan tidak menunjukkan perbedaan bermakna antara pretest dan posttest sehingga tidak dilakukan perhitungan rasio.

Hasil penelitian menunjukkan semua kelompok mengalami peningkatan jumlah jengukan mencit setelah pemberian larutan uji kecuali pada kelompok kontrol negatif (CMC Na 25 mL/kgBB) yang mengalami penurunan. Meskipun demikian tidak semua kelompok menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik. Hasil analisa menggunakan dengan uji T berpasangan menunjukkan adanya peningkatan jumlah jengukan mencit yang signifikan ($p < 0,05$) setelah pemberian kafein 25 mg/kgBB, ekstrak bunga cengkeh dosis (100 dan 400) mg/kgBB serta ekstrak daun cengkeh dosis (100, 200 dan 400) mg/kgBB.

Pada metode *hole-board*, kafein mempunyai rasio peningkatan aktivitas lokomotorik sebesar 3,19. Ekstrak bunga cengkeh mempunyai rasio peningkatan aktivitas lokomotorik paling besar pada dosis 400 mg/kgBB yaitu 3,74, sedangkan ekstrak daun cengkeh pada dosis 100 mg/kgBB yaitu 3,37 (Tabel I).

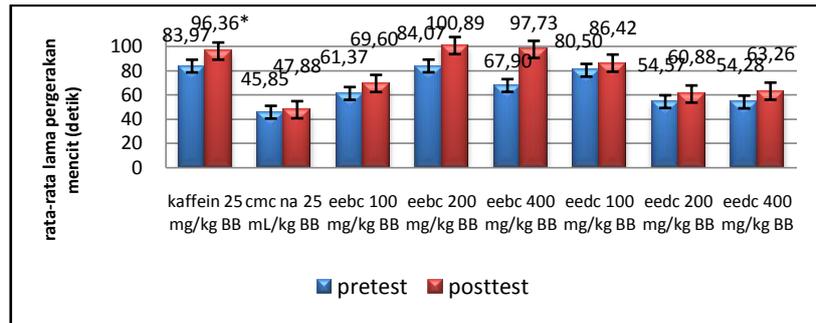
Hasil uji Kruskal Wallis terhadap data rasio peningkatan aktivitas lokomotorik mencit yang mendapat perlakuan dengan ekstrak etanol daun cengkeh tidak berbeda bermakna dengan kelompok kafein. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa aktivitas stimulasi ekstrak

etanol daun cengkeh (100, 200 dan 400) mg/KgBB kafein setara dengan kafein 25 mg/KgBB ($p > 0,05$).

Uji Aktivitas Locomotorik dengan Metode *Open-Field*

Pada uji aktivitas lokomotorik dengan metode *open-field*, data yang diamati adalah lama pergerakan mencit dalam *open-field box* selama 5 menit. Data rata-rata lama pergerakan mencit (detik) dalam *open-field box* masing-masing kelompok seperti yang tersaji dalam gambar 2. Rasio peningkatan aktivitas lokomotorik mencit jantan galur Swiss yang mendapat perlakuan dengan ekstrak daun dan bunga cengkeh pada metode ini dapat dilihat pada tabel II.

Dilihat dari gambar 2, semua kelompok uji menunjukkan peningkatan rata-rata lama pergerakan mencit selama 5 menit. Walaupun demikian, hanya kelompok kontrol positif (kafein 25 mg/kgBB) yang menunjukkan peningkatan yang signifikan secara statistik ($p < 0,05$). Rasio peningkatan aktivitas lokomotorik kafein adalah 1,15 pada metode *open-field* (Tabel II). Hasil analisa menggunakan SPSS dengan uji T berpasangan menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada data lama pergerakan mencit jantan galur Swiss setelah pemberian ekstrak bunga dan daun cengkeh ($p > 0,05$).



Gambar 2. Grafik rata-rata lama pergerakan mencit (detik) tiap kelompok selama 5 menit. eebc : ekstrak etanol bunga cengkeh; eedc : Ekstrak etanol daun cengkeh. *Hasil Uji T berpasangan menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara sebelum dan sesudah pemberian larutan uji ($p < 0,05$).

Tabel II. Rasio peningkatan aktivitas lokomotorik pada metode *Open field*

Kelompok Pemberian	Rata-rata Lama Pergerakan Mencit (detik)		Rasio
	Pretest	Posttest	
kafein 25 mg/kgBB	83,97 ± 1,424	96,36 ± 4,350	1,15
CMC Na 25 mL/kgBB	45,85 ± 7,218	47,88 ± 9,271	-
ekstrak etanol bunga cengkeh dosis 100 mg/kgBB	61,37 ± 13,432	69,60 ± 13,578	-
ekstrak etanol bunga cengkeh dosis 200 mg/kgBB	84,07 ± 4,345	100,89 ± 18,430	-
ekstrak etanol bunga cengkeh dosis 400 mg/kgBB	67,90 ± 13,727	97,73 ± 38,103	-
ekstrak etanol daun cengkeh dosis 100 mg/kgBB	80,50 ± 6,615	86,42 ± 5,958	-
ekstrak etanol daun cengkeh dosis 200 mg/kgBB	54,57 ± 11,827	60,88 ± 12,928	-
ekstrak etanol daun cengkeh dosis 400 mg/kgBB	54,28 ± 9,970	63,26 ± 11,684	-

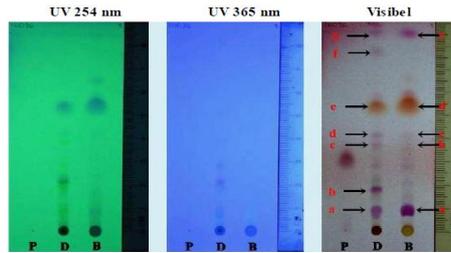
Keterangan : (-) Hasil uji T berpasangan tidak menunjukkan perbedaan bermakna antara pretest dan posttest sehingga tidak dilakukan perhitungan rasio.

Identifikasi Senyawa Golongan Terpenoid

Identifikasi kandungan senyawa terpenoid dilakukan untuk memastikan adanya senyawa tersebut dalam ekstrak etanol bunga dan daun cengkeh menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Identifikasi senyawa aktif golongan terpenoid lebih ditujukan untuk identifikasi senyawa terpenoid golongan minyak menguap seperti golongan monoterpen, diterpen dan sesquiterpen. Sebagai baku pembanding yang digunakan yaitu terpineol dan penampak bercak adalah vanilin asam sulfat. Hasil identifikasi dapat dilihat pada gambar 3.

Hasil KLT menunjukkan ekstrak etanol bunga dan daun cengkeh menghasilkan bercak meredam warna hijau dan biru pada UV_{254} nm, sedangkan pada UV_{365} nm terlihat bercak meredam berwarna biru muda. Pengamatan bercak di bawah sinar tampak

menghasilkan lebih dari satu bercak berwarna merah violet, dan warna bercak tersebut menyerupai warna bercak pembanding terpineol. Bercak senyawa terpenoid pada ekstrak etanol bunga cengkeh terdeteksi pada R_f 0,11; 0,44; 0,47; 0,65; 0,95, dan pada ekstrak etanol daun cengkeh terdeteksi pada R_f 0,11; 0,22; 0,44; 0,47; 0,65; 0,92; 0,95. Hasil ini menunjukkan bahwa di dalam ekstrak etanol bunga dan daun cengkeh tersebut mengandung beberapa senyawa terpenoid dengan tingkat kepolaran yang berbeda.

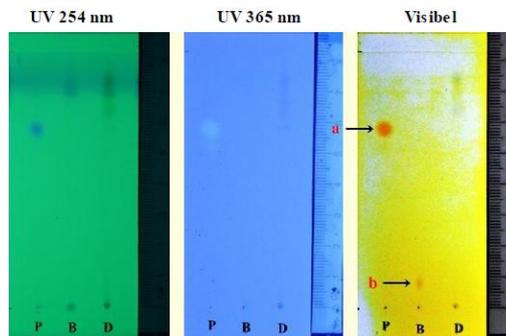


Gambar 3. Kromatogram ekstrak etanol daun cengkeh (D) dan ekstrak etanol bunga cengkeh (B) dibandingkan dengan baku pembanding terpineol (P)

Keterangan :
 Pembanding : Terpineol (P)
 Sampel 1 : Ekstrak etanol daun cengkeh (D)
 Sampel 2 : Ekstrak etanol bunga cengkeh (B)
 Fase Diam : Silica gel F254 (Al – Sheet)
 Fase Gerak : Toluena : Etil Asetat (93 : 7)
 Pereaksi semprot : Vanilin Asam Sulfat
 Rf Terpineol : 0,36
 Rf Terpenoid pada ekstrak daun cengkeh (D) :
 a = 0,11 ; b = 0,22 ; c = 0,44 ; d = 0,47 ; e = 0,65 ; f = 0,92 ; g = 0,95
 Rf terpenoid pada ekstrak bunga cengkeh (B) :
 a = 0,11 ; b = 0,44 ; c = 0,47 ; d = 0,65 ; e = 0,95
 Warna spot terpenoid di visibel : merah violet

Identifikasi Senyawa Golongan Alkaloid

Identifikasi kandungan senyawa alkaloid dengan metode KLT dilakukan untuk memastikan adanya senyawa tersebut dalam ekstrak etanol bunga dan daun cengkeh. Baku pembanding yang digunakan yaitu kafein dan reagen dragendorff. Hasil identifikasi senyawa aktif golongan alkaloid dalam ekstrak etanol daun dan bunga cengkeh tersaji pada gambar 4. Setelah dilakukan penyemprotan dengan reagen dragendorff, tidak terlihat adanya bercak senyawa alkaloid dibawah sinar UV₂₅₄ nm dan UV₃₆₅ nm..



Gambar 4. Kromatogram ekstrak etanol bunga cengkeh (B) dan ekstrak etanol daun cengkeh (D) dibandingkan dengan baku pembanding kafein (P)

Pembanding : Kafein (P) \\
 Sampel 1 : Ekstrak etanol bunga cengkeh (B)
 Sampel 2 : Ekstrak etanol daun cengkeh (D)
 Fase Diam : Silica gel F254 (Al – Sheet)
 Fase Gerak : Metanol : Amoniak (100 : 1,5)
 Pereaksi : Dragendorff
 Rf Kafein : 0,64 (a)
 Rf alkaloid pada ekstrak daun cengkeh : -
 Rf alkaloid pada ekstrak bunga cengkeh : 0,1 (b)
 Warna spot alkaloid di visibel : kuning orange

Diskusi dan Pembahasan

Dalam berbagai literatur, salah satu khasiat dari tanaman cengkeh adalah sebagai stimulasi. Penelitian ini berhasil membuktikan efek stimulasi ekstrak etanol daun dan bunga cengkeh pada mencit jantan galur Swiss melalui uji aktivitas lokomotorik dengan metode *hole-board* dan *open-field test*. Metode *hole-board* digunakan untuk menguji perilaku hewan uji yang menunjukkan keingintahuan dan eksplorasi, sedangkan metode *open field* digunakan untuk menguji aktivitas perpindahan hewan uji (Vogel, 2002). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol bunga dan daun cengkeh (100 – 400) mg/KgBB dapat meningkatkan keingintahuan dan eksplorasi tanpa meningkatkan aktivitas perpindahan pada mencit jantan galur Swiss. Berdasarkan hal tersebut, mekanisme aksi stimulasi ekstrak etanol bunga dan daun cengkeh adalah dengan cara meningkatkan kemampuan kognitif hewan uji.

Jika diamati dari rasio peningkatan jumlah jengukan mencit ke dalam lubang *hole-board box*, efek stimulasi ekstrak etanol daun cengkeh setara dengan kafein 25 mg/KgBB ($p > 0,05$). Kafein merupakan senyawa golongan alkaloid yang banyak dikonsumsi di dunia sebagai stimulasi dan penggunaannya secara umum tidak dibatasi (Boutrel dan Koob, 2004). Hasil penelitian ini membuktikan bahwa kafein dapat meningkatkan aktivitas lokomotorik mencit jantan galur Swiss pada dosis 25 mg/kgBB. Kafein dapat menginduksi aktivitas lokomotorik pada dosis sedang, yaitu 15-20 mg/kgBB. Dosis kafein yang digunakan dalam penelitian termasuk dosis tinggi, yaitu 25 mg/kgBB (Hsu, *et.al.*, 2010). Kafein bekerja dengan menghambat reseptor adenosin. Penghambatan terhadap reseptor adenosin dapat menstimulasi gerakan spontan (Davis, *et.al.*, 2003).

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak bunga dan daun cengkeh dapat dikembangkan dalam penemuan agen stimulasi baru yang berasal dari bahan alam. Oleh karena itu, penelitian selanjutnya difokuskan pada penelusuran komponen aktif dari ekstrak bunga dan daun cengkeh yang terbukti memiliki efek stimulasi.

Dalam penelitian ini, juga telah dilakukan uji pendahuluan untuk mengidentifikasi kandungan golongan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak daun dan bunga cengkeh. beberapa penelitian sebelumnya telah mengungkap kandungan senyawa aktif dalam tanaman cengkeh, yaitu terpenoid (Bhuiyan, *et.al.*, 2010), alkaloid, asam amino, flavonoid, protein, sterol, gula dan tanin (Jenkins, *et.al.*, 1967). Senyawa aktif golongan terpenoid dan alkaloid telah lama diketahui memiliki salah satu khasiat sebagai stimulasi.

Oleh karena itu, skrining senyawa aktif dalam penelitian ini difokuskan pada identifikasi senyawa aktif golongan terpenoid dan alkaloid.

Review Kennedy dan Wightman (2011) menunjukkan bahwa beberapa senyawa golongan terpenoid dapat mempengaruhi fungsi sistem saraf pusat (SSP). Beberapa senyawa terpenoid tersebut adalah bilobalide, ginkgolida A, B, C, dan J yang terdapat dalam *Ginkgo biloba*. Senyawa terpenoid dalam *Ginkgo biloba* dapat menghambat *monoamine oxydase A* (MAOA) dan menghambat *uptake* dopamin, serotonin, dan norepinefrin. Efek yang timbul pada penggunaan *Ginkgo biloba* adalah peningkatan kemampuan kognitif dan memori jangka panjang.

Senyawa terpenoid lain yang mempunyai pengaruh pada fungsi SSP adalah ginsenosida yang terdapat dalam *Panax ginseng*. Penelitian dengan menggunakan hewan percobaan menunjukkan bahwa ginsenosida mempunyai efek antistres, antidepresan, ansiolitik, meningkatkan kemampuan belajar dengan cara membantu neurogenesis dan mengatur potensi jangka panjang dalam hippocampus. Senyawa terpenoid yang terkandung dalam tanaman *Melissa officinalis*, *Salvia lavandulaefolia*, *Valeriana officinalis* juga mempunyai pengaruh pada fungsi SSP (Kennedy dan Wightman, 2011). Oleh karena itu, sangat dimungkinkan bahwa adanya aktivitas stimulasi yang diakibatkan oleh pemberian ekstrak etanol bunga dan daun cengkeh pada mencit jantan galur Swiss disebabkan adanya kandungan senyawa terpenoid didalamnya.

Selain senyawa golongan terpenoid, senyawa bahan alam lain yang dikenal sebagai stimulasi adalah senyawa aktif golongan alkaloid. Banyak senyawa golongan alkaloid yang dikenal sebagai stimulasi, diantaranya kafein, kokain dan nikotin (Samuelsson, 1999). Kafein dapat meningkatkan kesadaran dengan menstimulasi neuron (khususnya kholinergik) yang bertanggung jawab meningkatkan kesadaran. Aktivitas kafein yang lain adalah menghambat neuron (khususnya GABAergik) yang menyebabkan berkurangnya rasa kantuk, dan kemungkinan secara tidak langsung memodulasi reseptor dopamin *post-synaptic*. Interaksi *post-synaptic* dari reseptor adenosin dan reseptor dopamin mungkin menyebabkan aktivitas stimulasi dari kafein (Boutrel dan Koob, 2004). Dalam penelitian ini, hasil kromatogram menunjukkan bahwa hanya terdapat satu senyawa aktif golongan alkaloid di dalam ekstrak etanol bunga cengkeh yang mungkin memiliki peran terhadap peningkatan aktivitas lokomotorik mencit jantan galur Swiss. Sebaliknya, ekstrak etanol daun cengkeh tidak mengandung senyawa aktif golongan alkaloid.

Dalam ekstrak etanol bunga dan daun cengkeh, diperkirakan masih terdapat senyawa aktif lain yang mungkin berkontribusi terhadap intensitas efek stimulasi yang dihasilkan pada mencit jantan galur Swiss. Salah satu senyawa aktif tersebut adalah senyawa golongan flavonoid. Beberapa derivat flavon dapat bertindak sebagai ligan pada reseptor GABA_A dalam SSP dan berikatan dengan *benzodiazepin binding site* sehingga menghasilkan efek depresan pada hewan uji (Marder dan Paladini, 2002). Penelitian Kang, *et.al.* (2000) mendeteksi efek sedatif dua flavonol glikosida (quercitrin dan isoquercitrin) yang diisolasi dari bunga *Albizia julibrissin* Durazz. Flavonol glikosida yang diisolasi dari *Goodyera schlechtendaliana* (goodyerin) juga menunjukkan efek sedatif dan antikonvulsan (Du, *et.al.*, 2002).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol bunga dan daun cengkeh terbukti memiliki khasiat sebagai stimulasi dengan cara meningkatkan aktivitas lokomotorik mencit jantan galur Swiss pada metode *hole-board* ($p < 0,05$). Pemberian ekstrak etanol bunga dan daun cengkeh (100-400) mg/KgBB dapat meningkatkan rasa keingintahuan dan eksplorasi mencit jantan galur Swiss tanpa meningkatkan aktivitas perpindahan/pergerakan. Senyawa aktif golongan terpenoid dan alkaloid dalam ekstrak etanol daun dan bunga cengkeh diduga bertanggung jawab terhadap peningkatan aktivitas lokomotorik mencit jantan galur Swiss.

DAFTAR PUSTAKA

Bhuiyan, N.I., Begum, J., Nandi, N.C., and Akter, F., 2010, Constituents of Essential Oil from Leaves and Buds of Clove (*Syzygium aromaticum* (L) Alston), *African Journal of Plant Science*, **4** : 451.

Boutrel, B., and Koob, G.F., 2004, What Keeps Us Awake: the Neuropharmacology of Stimulants and Wakefulness – Promoting Medications, *SLEEP*, **27** : 1183.

Davis, J.M., Zao, Z., Stock, H.S., Mehl, K.A., Buggy, J., and Hand, G.A., 2003, Central Nervous System Effect of Caffeine and Adenosine on Fatigue, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, **284** : 399-404.

Depkes RI, 1986, *Sediaan Galenik*, 10, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

Depkes RI, 1989, *Materia Medika Indonesia*, Edisi 5, 120-123, Departemen Kesehatan Indonesia, Jakarta.

Du, X.M., Sun, N.Y., Takizawa, N., Guo, Y.T., Shoyama, Y., 2002, Sedative and Anticonvulsant Activities of Goodyerin, a Flavonol Glycoside from *Goodyera schlechtendaliana*, *Phytotherapy Research*, **16** : 261–263.

Harborne, J. B., 1973, *Phytochemical Methods : A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*, 185, Chapman and Hall, London.

Hossain, A., 2012, Preparation of Crude Drugs, <http://forum.daffodilvarsity.edu.bd/index.php?topic=9867.0>, diakses 16 September 2012.

Hsu, C.W, Wang, C.S., and Chiu, T.H, 2010, Caffeine and a Selective Adenosine A_{2A} Receptor Antagonist Induce Sensitization and Cross-Sensitization Behavior Associated with Increased Striatal Dopamine in Mice, *Journal of Biomedical Science*, **17**(4).

Jenkins, G.L., Knevel, A.M., and Digangi, F.E., 1967, *Quantitative Pharmaceutical Chemistry*, 455-462, Mcgraw Hill Book Company, New York, Amerika.

Kang, T.H., Jeong, S.J., Kim, N.Y., Higuchi, R., Kim, Y.C., 2000, Sedative Activity of Two Flavonol Glycosides Isolated from the Flowers of *Albizia julibrissin* Durazz, *Journal of Ethnopharmacology*, **71** : 321–323.

Kennedy, D.O., and Wightman, E.L., 2011, Herbal Extracts and Phytochemicals: Plant Secondary Metabolites and the Enhancement of Human Brain Function, *Advances of Nutrition : An International Review Journal*, : 35-39.

Kumar, P., Jaiswal, P., Singh, V.K., and Singh, D.K., 2011, Medicinal, Therapeutic and Pharmacological Effects Of *Syzygium Aromaticum* (Laung), *Pharmacologyonline*, **1** : 1044-1055.

Marder, M., Paladini, A.C., 2002, GABA_A-receptor Ligands of Flavonoid Structure, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **2**, 853–867.

Nurdjannah, N., 2004, Diversifikasi Penggunaan Cengkeh, *Perspektif*, **3**(2) : 61-70.

Samuelsson, G., 1999, *Drugs of Natural Origin: A textbook of Pharmacognosy*, 4th revised edition, 435, 446, 513, Swedish Pharmaceutical Press, Sweden.

- Soemarno, 1989, *Analisis Metabolit Sekunder*, 423-434, 465-466, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Tao, G., Irie, Y., Li, D.J., and Keung, W.M., 2005, Eugenol and Its Structural Analogs Inhibit Monoamine Oxidase A and Exhibit Antidepressant-Like Activity, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **13** : 4777-4788.
- Vogel, W.H., 2002, *Drug Discovery and Evaluation Pharmacological Assays*, 2nd edition, Springer, 393-395.
- Voigt, R., 1994, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, diterjemahkan oleh Soendani Noerono Soewandhi, 561, Gajah Mada University Press, Yogyakarta.