

Aktivitas analgetika dan anti-inflamasi ekstrak batang combrang (*Nicolaia speciosa* Horan)

Analgesic and anti-inflammatory activities of combrang (*Nicolaia speciosa* Horan) stem the extract

Sri Sutji Susilowati^{1*}, Sudibyo Martono², Sugeng Riyanto² dan Agung Endro Nugroho²

¹ Jurusan Farmasi dan Ilmu Kedokteran Uni. Jendral Sudirman; Jl. Dr. Soeparno, Karangwangkal, Purwokerto, 53122

² Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Sekip Utara Yogyakarta 55281

Abstrak

Tujuan jangka panjang penelitian ini adalah pemanfaatan *combrang* (*Nicolaia speciosa* Horan) sebagai bahan obat tradisional setelah melalui uji preklinik dan uji klinik baik ekstrak maupun senyawa bioaktifnya. Penelitian ini meliputi uji aktivitas analgetika-antiinflamasi ekstrak n-heksana, kloroform, etilasetat dan metanol batang *combrang*. Uji analgetika terhadap ekstrak kasar n-heksana, kloroform, etil asetat dan metanol, menggunakan hewan uji mencit dengan metode geliat asetat menurut Witkin. Uji antiinflamasi menggunakan tikus putih galur Wistar dengan metode hambatan edema pada jaringan plantar kaki tikus yang terinduksi karagenan. Aktivitas analgetika-antiinflamasi dibandingkan dengan Na-diklofenak. Hasilnya keempat ekstrak mempunyai aktivitas analgetika dan antiinflamasi, ekstrak etilasetat mempunyai aktivitas analgetika dan antiinflamasi tertinggi.

Kata kunci: Analgetika, antiinflamasi, ekstrak batang combrang

Abstract

Long-term goal of this study is the use of *combrang* (*Nicolaia speciosa* Horan) as an ingredient of traditional medicine after being evaluated through preclinical testing and clinical trials both extract and its bioactive compounds. This study includes analgesic-antiinflammatory activity test of n-hexane, chloroform, ethyl acetate and methanol extract of *combrang* stem. Analgesic test against crude extract of n-hexane, chloroform, ethyl acetate and methanol, using acetate writhing method. Antiinflammatory test using inhibition method of paw oedema by carrageenan induced on Wistar rats. Analgesic-antiinflammatory activity compared to Na-diclofenac. The result is four extracts have analgesic and antiinflammatory activity, ethyl acetate extract has the highest analgesic and antiinflammatory activity.

Key words: analgesics, anti-inflammatory, extract of *combrang* stem

Pendahuluan

Nicolaia atau lebih dikenal dengan nama daerah *combrang* merupakan suatu tanaman yang bermanfaat dan cukup potensial untuk dikembangkan dan dibudi dayakan. Bagian dari tanaman yang dimanfaatkan untuk mengobati rematik maupun encok adalah perasan batang, karena dapat menghilangkan rasa sakit dan pembengkakan yang ditimbulkan oleh penumpukan asam urat pada persendian atau dengan mekanisme lain yang belum diketahui secara pasti. Penggunaan sebagai obat masih berda-

sarkan pengetahuan turun temurun, belum ada penelitian yang mengkaji aktivitas farmakologi senyawa bioaktif pada batang combrang yang dapat menunjang penggunaannya sebagai obat tradisional.

Tanaman ini mengandung senyawa aktif antara lain: saponin, flavonoid, minyak atsiri, alkaloid dan steroid (Tampubolon, 1983; Antoro, 1995; Susilowati, 2007). Berdasarkan penggunaan secara tradisional, maka perlu dilakukan penelitian mengenai aktivitasnya agar penggunaan secara tradisional lebih terarah.

Penelitian yang dilakukan oleh Jaafar *et al.* (2007) terhadap daun, batang, bunga dan rimpang secara hidrodestilasi dilanjutkan dengan GC-MS, menyatakan bahwa komposisi kimia utama minyak atsiri combrang adalah siklododekan, β -pinena, kariofilena, β -farnesena, 1,1-dodekandiol diasetat dan (E)-5-dodekan. Tanaman combrang mempunyai aktivitas antitumor, sitotoksik (Habsah *et al.*, ^a, 2005) dan antioksidan (Habsah *et al.*, ^b, 2005), Susilowati dan Handayani (2007) melaporkan adanya aktivitas antiinflamasi ekstrak air batang combrang.

Efek analgetika sering dikaitkan dengan efek antiinflamasi. Obat antiinflamasi, analgetika dan antipiretika merupakan kelompok senyawa yang sangat heterogen, tidak berhubungan secara kimia, mempunyai kesamaan efek terapi dan efek samping tertentu. Sebagai prototipe adalah aspirin, sehingga kelompok ini disebut sebagai *aspirin like drugs* atau antiinflamasi non steroid (AINS) (Insel, 1992).

Uji aktivitas antiinflamasi dapat dilakukan secara *in vitro* atau *in vivo*. Penentuan secara *in vitro* didasarkan pada mekanisme biokimia spesifik dan digunakan untuk skrening awal senyawa antiinflamasi, misalnya penghambatan siklooksigenase dan lipooksigenase, penghambatan makropag dan penghambatan protease. Penentuan secara *in vivo* yang sering digunakan adalah edema terinduksi karagenan pada tikus, eritema ultra violet, dan artritis terinduksi ajuvan. Tehnik yang banyak digunakan dalam pengembangan obat AINS adalah dengan mengukur kemampuannya untuk menghambat edema pada kaki tikus yang disebabkan oleh injeksi senyawa flogistik (Shen, 1981 dalam Susilowati, 2000).

Tujuan penelitian ini adalah: mengetahui aktivitas analgetika-antiinflamasi ekstrak n-heksana, kloroform, etilasetat dan metanol batang combrang.

Metodologi

Bahan dan alat

Penelitian dilakukan selama 2 tahun dari bulan April 2008 – Maret 2010, di Laboratorium Kimia Organik Jurusan MIPA FST Unsoed, Laboratorium Farmakologi jurusan Farmasi dan Kedokteran FKIK Unsoed, dan Laboratorium Kimia Organik FMIPA UGM.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah batang combrang (*Nicolaia speciosa* Horan), pelarut n-Heksana, kloroform, etilasetat, metanol lempeng KLT silika gel GF 254, asam asetat, parasetamol, Na-diklofenak, karagenan, CMC, aquades.

Hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar, umur 2-3 bulan dengan berat badan 150-300 gram untuk uji antiinflamasi dan mencit jantan (*Mus musculus*), umur 1-2 bulan dan berat badan 25-35 gram untuk uji analgetika, semuanya dari Laboratorium Farmakologi Jurusan Farmasi dan Kedokteran FKIK Unsoed.

Jalannya penelitian

Ekstraksi batang combrang dengan pelarut n-heksana, kloroform, etilasetat dan metanol dengan cara maserasi selama 2 x 24 jam.

Ujiaktivitas analgetika menurut Witkin (Susilowati, 2000)

Tiga puluh enam ekor mencit dibagi menjadi 6 kelompok, tiap kelompok berjumlah 6 ekor. Obat dan senyawa uji dalam bentuk suspensi dengan natrium karboksimetilselulosa (CMC) 0,5% b/v. Kadar obat dalam CMC dibuat bervariasi antara 1-3% sehingga suspensi yang diberikan tidak melebihi 0,5 mL. Kelompok I adalah kontrol (tanpa senyawa yang diuji), kelompok II, III, IV dan V merupakan kelompok uji yang diberi senyawa uji dengan dosis 50; 100; 200; 400 mg/kg berat badan, kelompok VI diberi suspensi Na-diklofenak 50mg/kg berat badan yang diberikan secara oral, kemudian setelah 15 menit semua hewan uji diberi suntikan larutan steril asam asetat secara intra peritoneal dengan dosis 300 mg/kg, lalu dicatat jumlah geliat mencit setelah penyuntikan setiap selang waktu 15 menit selama 1 jam. Data yang diperoleh dinyatakan dengan % daya analgetika dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ analgetika} = 100 - (P/K \times 100)$$

Keterangan:

P adalah jumlah kumulatif geliat mencit yang diberi obat analgetika

K adalah jumlah kumulatif geliat mencit kontrol

Karena uji dilakukan terhadap 4 eks trak maka mencit yang digunakan adalah: 4 x 36 ekor = 144 ekor.

Penentuan aktivitas antiinflamasi (Mansyur, 1997; Sari, 1999; Susilowati, 2000)

Aktivitas antiinflamasi ditentukan dengan metode hambatan edema yang diinduksi karagenan (1% b/v dalam NaCl 0,9% b/v) menurut Winter. Untuk tiap macam larutan uji dibutuhkan 48 ekor tikus Wistar jantan, yang dibagi menjadi 7 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 6 ekor hewan uji. Senyawa uji Na-diklofenak dibuat suspensi

Tabel I. Hasil ekstraksi 5 kg batang combrang dengan pelarut n-heksana, kloroform, etilasetat dan metanol

Ekstrak	Bentuk	Warna	Berat (gram)
n-heksana (E1)	Padatan lengket	Coklat	9,50
Kloroform (E2)	Padatan lengket	Hijau kotor	10,03
Etilasetat (E3)	Padatan agak lengket	Hijau	10,5
Metanol (E4)	Padatan lengket	Hijau	7,50

dengan CMC 0,5% b/v. Kelompok I adalah kontrol, kelompok II, III, IV, V, dan VI adalah kelompok uji yang diberi suspensi larutan uji dengan dosis 25; 50; 100; 200 dan 400 mg ekstrak/kg berat badan. Kelompok VII diberi suspensi Na-diklofenak dengan dosis 50 mg/kg. Obat dan senyawa uji diberikan per oral. Tikus dengan bobot 100-200 gram yang telah dipuasakan semalam diberi tanda pada kaki kanannya kemudian diberi suspensi obat secara oral. Satu jam setelah pemberian obat, pada jaringan plantar tapak kaki kanan tikus disuntikkan suspensi karagenan 1% b/v dalam NaCl steril 0,9% sebanyak 1 mL secara subkutan. Segera setelah penyuntikan kaki tikus dimasukkan sampai tanda ke dalam alat plethysmometer yang berisi larutan rodamin B. Larutan rodamin B yang tumpah ditampung pada tabung berskala sehingga volume larutan yang tumpah dapat diukur yang setara dengan volume edema kaki tikus. Pengukuran dilakukan tiap jam dimulai pada jam ke-0, yaitu segera setelah penyuntikan suspensi karagenan sampai jam ke-4. Volume edema (mL) pada jam ke-0 dinyatakan sebagai V_0 , sedangkan volume edema pada jam ke-t dinyatakan sebagai V_t Persentase beda volume edema (DVt) tiap jam dihitung dengan rumus (Mansjoer, 1997):

$$DVt = \{(Vt - V_0)/V_0\} \times 100\%$$

Dari data beda volume edema, dihitung persentase hambatan edema (% Inhibisi) tiap jam untuk tiap kelompok dengan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \{i - (V_T/V_K)\} \times 100$$

Keterangan:

V_T : persentase beda volume edema jam ke-t kelompok dosis perlakuan

V_K : persentase beda volume edema jam ke-t kelompok kontrol

Dari data persentase hambatan edema tiap jam dicari persentase hambatan maksimum untuk tiap kelompok dosis perlakuan. Kemudian dibuat kurva hubungan antara dosis dengan persentase hambatan maksimum untuk menentukan ED_{50} , yaitu dosis yang menghasilkan efek hambatan 50%.

Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi batang combrang dengan pelarut n-heksana, kloroform, etilasetat dan metanol menghasilkan ekstrak n-heksana (E₁), kloroform (E₂), etilasetat (E₃), dan ekstrak metanol (E₄), hasil ekstraksi dapat dilihat pada Tabel I.

Identifikasi menggunakan pereaksi warna yaitu pereaksi Dragendorf, pereaksi vanilin-HCL, Pereaksi FeCl₃, KMnO₄ 1% dalam HCl 2M, -NH₄OH 1M, uap amonia dan dikocok dengan air untuk senyawa saponin. Ekstrak n-heksana mengandung alkaloid, katekin, senyawa fenolat, flavonoid dan saponin. Ekstrak kloroform mengandung alkaloid, senyawa fenolat dan flavonoid. Ekstrak etilasetat mengandung fenolat, flavonoid dan saponin. Ekstrak metanol mengandung alkaloid, katekin, senyawa fenolat, flavonoid dan saponin.

Identifikasi keempat ekstrak dengan GC-MS dan diambil puncak terbesar kemudian dibandingkan dengan library. Diduga ekstrak n-heksana (E₁) mengandung dodekanol, asam palmitat, olealdehida, miristol palmitat, pregn-4-en-3,20-dion, 7,8-epoksi- α -ionon. Ekstrak kloroform (E₂) diduga mengandung dodekanol, desil asetat, heksa dekanol, tridesilvinil ester, 14-(2-metilbutil)bisiklo (10,3,0) deka-13-ol. Ekstrak etilasetat (E₃) diduga mengandung 1,2-etandiol mono asetat, 1,2-etandiol diasetat, dodekanol, desilasetat, kolesterol kloroformat.

Uji analgetika ekstrak n-heksana, kloroform, etilasetat dan (Tabel II). Uji aktivitas analgetika senyawa na-diklofenak didapatkan nilai ED_{50} sebesar 55,8 mg/kg. Dari hasil uji aktivitas analgetika ternyata ekstrak etilasetat mempunyai daya analgetika tertinggi (ED_{50} = 57,7 mg/kg), sedangkan ekstrak metanol mempunyai daya analgetika terendah (ED_{50} = 1573,5 mg/kg).

Tabel II. Nilai ED₅₀ aktivitas analgetika ekstrak n-heksana, kloroform, etilasetat dan metanol

No	Jenis ekstrak	ED ₅₀ (mg/kg BB)
1	n-heksana	576,2
2	Kloroform	954,6
3	Etilasetat	57,7
4	Metanol	1573,5

Tabel III. Dosis ekstrak yang menghasilkan aktivitas hambatan edema optimum

No	Jenis ekstrak	Dosis optimum (mg/kg BB)	% hambatan edema
1	n-heksana	269,6	100
2	Kloroform	999	85,9
3	Etilasetat	66,3	143
4	Metanol	2396	138

Daya analgetika ekstrak etilasetat hampir sama besarnya dengan daya analgetika n-diklofenak. Kemungkinan ekstrak etilasetat banyak mengandung senyawa fenolat yang mempunyai aktivitas analgetika menyerupai asam salisilat ataupun senyawa analgetika alam lainnya.

Uji antiinflamasi keempat ekstrak didapatkan bahwa pada ekstrak n-heksana, kloroform, etilasetat, dan metanol mencapai efek hambatan inflamasi maksimum setelah 2,5 jam dari penyuntikan. Setelah didapatkan waktu dari aktivitas hambatan edema maksimum kemudian dibuat kurva hubungan antara dosis dan % hambatan edema (%inhibisi) maksimum pada jam ke 2,5, untuk melihat potensi antiinflamasi ekstrak n-heksana, kloroform, etilasetat dan metanol pada beberapa dosis.

Dari kurva hubungan antara dosis ekstrak dan % hambatan edema pada 0,5 jam ke 5 (2,5 jam) setelah penyuntikan karagenan ternyata pada keempat ekstrak mempunyai dosis optimum (Tabel III), pada dosis yang lebih tinggi dari dosis optimum tersebut terjadi penurunan aktivitas antiinflamasi. Hal ini disebabkan karena telah terjadi kejenuhan ikatan senyawa aktif dengan reseptor, sehingga dengan penambahan dosis tidak menambah aktivitas.

Dosis optimum Na-diklofenak 13,9 mg/kg dan hambatan edema sebesar 138%. Perbandingan daya antiinflamasi keempat

ekstrak dengan Na-diklofenak terlihat lebih nyata.

Dari hasil penelitian, urutan ekstrak dengan aktifitas anti inflamasi paling poten adalah: ekstrak metanol < ekstrak kloroform < ekstrak n-heksana < ekstrak etil asetay (Tabel II). Hal ini disebabkan karena dalam ekstrak etilasetat mungkin banyak terdapat senyawa fenolat dan flavonoid yang mudah dioksidasi sehingga akan menghambat kerja enzim oksidase yang berperan dalam perubahan asam arakhidonat menjadi prostaglandin sehingga menghambat terjadinya inflamasi (Susilowati dan Handayani, 2007).

Kesimpulan

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut: ekstrak n-heksana, kloroform, etilasetat dan metanol mempunyai aktivitas analgetika dan antiinflamasi. Ekstrak etilasetat mempunyai aktivitas analgetika tertinggi (57,7 mg/kg) dibanding ekstrak n-heksana (576,2 mg/kg), kloroform (954,6 mg/kg), dan metanol (1573,5 mg/kg).

Aktivitas antiinflamasi (%hambatan edema) ekstrak n-heksana, kloroform, etilasetat dan metanol berturut-turut adalah 100% (Dosis 269,6 mg/kg); 85,99% (dosis 999 mg/kg); 143% (dosis 55,32 mg/kg) dan 138% (dosis 2396 mg/kg).

Disarankan agar dilakukan penelitian aktivitas analgetika-antiinflamasi secara *in-vitro*

dan *in vivo* ekstrak etilasetat, kemudian uji aktivitas dengan metode lain, ditentukan dosis efektif, dosis maksimum dan dosis letalnya agar diketahui profil farmakologinya. Disarankan pula penelitian stabilitas ekstrak maupun

senyawa dalam berbagai bentuk sediaan obat misalnya kapsul, tablet, sirup (untuk pemakaian dalam) dan cream atau *jelly* (untuk pemakaian luar).

Daftar Pustaka

- Antoro, S.E. 1995. *Skrining Fitokimia Rimpang N. speciosa Horan Secara Mikrokimiawi, KLT dan Spektrofotometri UV*. Penelitian Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Habsah, M., Ali, A.M., Lajis, N. H., Sukari, M. A., Yap, Y. H., Kikuzaki, H., Nakatani, N, 2005^a, Antitumor promoting and cytotoxic constituents of *Etligeria elatior*, *Malaysian J. Medical Science*. 12: 6-12.
- Habsah., M., Lajis, N. H., Abas, F., Ali, A. M., 2005^b, Antioxidative constituents of *Etligeria elatior*, *J. of Natural Products*. 68 (2): 285-288.
- Insel, P.A., 1992, Analgesics – Antipyretics and Antiinflammatory Agents, Drug Employed in The Treatment of Rheumatoid Arthritis and Gout, in Gilman, A.G., Rall, T.W., Nies, A.S., Taylor, P (eds), *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th Ed, Vol 1, Mc Graw Hill Inc, New York: 638- 644, 656 – 659.
- Jaafar, F. M., Osman, C. P., Ismail, N. H., Awang, K., 2007, Analysis of essential oils of leaves, stems, flowers and rhizomes of *Etligeria elatior* (Jack) R.M. Smith, *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, II (1): 269-273.
- Mansjoer, S., 1997, *Efek Anti Radang Minyak Atsiri Temu Putih (Curcuma zedoria Rosc.) Terhadap Udem Buatan Pada Tikus Putih Betina Galur Wistar*, *Majalah Farmasi Indonesia*, 8: 35-41.
- Sari, I. P., Hakim, L., 1999, Pengaruh Air Perasan Kubis (*Brassica oleracea* L.) Terhadap Terapi Inflamasi Dengan Diklofenak, *Majalah Farmasi Indonesia*, 10(4), 203-206..
- Susilowati, S. S., 2000, *Hubungan Struktur – Aktivitas Analgetika dan Antiinflamasi Senyawa N-Asil-p-Aminofenol*, Tesis, Program Pasca Sarjana, UGM, Yogyakarta.
- Susilowati, S. S., Handayani, S. N., 2007, *Identifikasi Senyawa Bioaktif Batang Combrang (Nicolaia speciosa Horan)*, Laporan Penelitian Jurusan Kimia, Unsoed, Purwokerto.
- Tampubolon, O.T. 1983. Penelitian Pendahuluan Kandungan Kimia *N. speciosa* Horan. *Risalah Tumbuhan Obat III*. Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta : 450 - 459.
- Turner, R. A., 1965, *Screening Methods in Pharmacology*, Academic Press, New York.

*) Korespondensi : Sri Sutji Susilowati
Jurusan Farmasi dan Kedokteran FKIK
Univ. Jendral Sudirman Jl. Dr. Soeparno, Karangwangkal
Purwokerto, 53122
Email : srisutji.susilowati@yahoo.com