

PHARMACOLOGICAL AND DOSAGE RANGE TESTS OF TENSIGARD[®] AS A HYPOTENSIVE PHYTOPHARMACA

UJI EFEK FARMAKOLOGI DAN KISARAN DOSIS JAMU TENSIGARD[®] SEBAGAI OBAT ANTI HIPERTENSI

M. Djatmiko*, Djoko Suhardjono** dan Agung Endro Nugroho**

* PT. Phapros Tbk Semarang, **Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

ABSTRACT

Tensigard is a phytofarmaca product of Agromed (PT. Phapros Tbk., Semarang) formulated for antihypertension therapy. The product comprises celery extract (*Apium graveolens*) 75 % and kumis kucing extract (*Orthosiphon stamineus Benth*) 25 %. The aims of the research is to study whether Tensigard has an effect to decrease blood pressure in the normo and hypertensive (adrenaline induced hypertension) experimental animals. The specific aim of the study is to determine the D₅₀ value of Tensigard to lower the blood pressure of the hypertensive experimental animals.

The tests were conducted using anesthetized using anesthetized cats which were randomly divided into two groups, each of which consisted of 35 normotensive cats and the other 35 cats with hypertension (due to adrenaline treatment, in which the blood pressure was increased about 1,5 times than normal value). Furthermore, each group was devided into seven sub groups, each of which consists of 5 cats. One sub group was used as the control group, while the remaining sub groups were treated with Tensigard (6 dosage levels).

The results of the studies indicated, that Tensigard has a hypotensive effect in the cats, either with normal or hypertension (adrenaline induced). The D₅₀ value of the hypotensive effect in hypertensive cats is $16,37 \pm 1,08$ mg/kg BW., in which the extrapolation of this dosage value for a 50 kg, human being is about 249,05 mg.

Key Word : tensigard, antihypertension, effective dosage

ABSTRAK

Tensigard merupakan produk fitofarmaka produksi Agromed (PT. Phapros) yang diformulasikan sebagai antihipertensi, dengan komposisi ekstrak seledri (*Apium graveolens*) 75% dan ekstrak kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) 25%. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan apakah Tensigard memiliki daya penurun tekanan darah hewan uji baik kondisi normotensi maupun hipertensi, sehingga dapat digunakan sebagai dasar secara ilmiah.

Uji dilakukan dengan menggunakan hewan uji kucing teranastesi yang dibagi menjadi 2 kelompok besar yaitu kelompok hewan normotensi dan hipertensi (karena pemberian adrenalin sehingga tekanan darah naik menjadi 1,5 kali tekanan darah normal) masing-masing terdiri dari 35 ekor. Selanjutnya dua kelompok tersebut dibagi lagi menjadi 7 sub kelompok masing-masing 5 ekor, 1 sub kelompok dari masing-masing kelompok digunakan sebagai kontrol, sedangkan 6 sub kelompok sisanya digunakan sebagai sub kelompok yang mendapatkan perlakuan dosis Tensigard (6 peringkat dosis). Data perubahan tekanan darah selama masa percobaan digunakan untuk melihat apakah efek hipotensif Tensigard juga terjadi pada kelompok normotensi disamping juga beberapa parameter turunannya yang digunakan untuk membuat hubungan dosis vs respon guna menghitung nilai D₅₀ dari Tensigard dalam kapasitasnya menurunkan tekanan darah pada subyek uji yang hipertensi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa Tensigard memiliki efek hipotensif baik pada kucing normotensi maupun hipertensi. Nilai D₅₀ efek hipotensif kucing hipertensi adalah 16,37

$\pm 1,08$ mg/kg BB dan ekstrapolasi nilai dosis tersebut pada manusia-50 kg adalah lebih kurang sebesar 249,05 mg.

Kata kunci : tensigard, antihipertensi, dosis efektif.

PENDAHULUAN

Pemanfaatan obat tradisional meliputi pencegahan, pengobatan maupun pemeliharaan kesehatan. Banyak obat tradisional yang telah digunakan, namun bukti ilmiah tentang khasiat berbagai obat tradisional tersebut belum dilaporkan. Salah satu obat tradisional yang banyak digunakan oleh masyarakat adalah ramuan untuk anti hipertensi.

Seiring dengan banyaknya penderita hipertensi di Indonesia dengan berbagai macam penyebab dan terdapatnya kendala pada pemakaian obat sintetis, misalnya mahalnnya harga obat dan efek samping yang tidak dikehendaki, menuntut pemerintah untuk mengembangkan obat tradisional secara luas, terutama menuju ke fitofarmaka. Seperti diketahui bahwa seledri (*Apium graveolens*) dipercaya bisa digunakan untuk menurunkan tekanan darah dan kenyataan menunjukkan bahwa pada tanaman ini mengandung begitu banyak senyawa yang bisa memberikan efek pada sistem kardiovaskuler (Duke, 2000). Uji pendahuluan menunjukkan bahwa tanaman ini mampu menurunkan tekanan darah pada hewan uji (Windriyati, 1997; Masruhen, 2000). Disamping itu kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) yang sudah dikenal memiliki daya diuretik juga mampu menurunkan tekanan darah (Handayani dan Budijanto, 1997).

Berdasarkan kenyataan diatas maka produk fitofarmaka Produksi Agromed (PT Phapros) yang terdiri dari campuran ekstrak seledri (*Apium graveolens*) 75% dan ekstrak kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) 25% perlu diuji kemampuan efek hipotensifnya baik pada hewan uji hipertensi maupun normotensi.

Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian Tensigard secara in vivo terhadap tekanan darah pada hewan uji kucing teranastesi baik pada kondisi hipertensi maupun

yang normotensi, serta kisaran dosis efektif pada subyek hipertensi yang didasarkan atas nilai D_{50} dari kurva dosis vs. respon dan nilai ekstrapolasi penggunaannya pada manusia.

METODOLOGI

Alat. Manometer air raksa (Laboratorium Fisiologi Manusia, FK UGM), kimograf kertas angus (INCO, India), seperangkat alat operasi (Solingen, Germany), cutter listrik (Yesng, Cina) dan spuit injeksi (Henke, Germany).

Bahan. Kucing dengan jenis kelamin jantan dan betina (berat badan 2,5-3,5 kg) yang diperoleh dari Lab. Fisiologi FKU UGM, Tensigard dengan komposisi utama ekstrak seledri (*Apium graveolens*) 75% dan ekstrak kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) 25%, CMC Na bermutu farmasetik, eter teknis, α -kloralose, larutan borax 5%, infus dextrose 5%, adrenalin injeksi dan akuadest.

Jalannya Penelitian.

Pembuatan subyek uji hipertensi. Kondisi hipertensi dari hewan uji dalam keadaan teranastesi dilakukan dengan cara memberi rangsangan pada sistem kardiovaskuler, dengan pemberian adrenalin yang didasarkan atas publikasi yang ada (Borkowski dan Finch, 1977; Tung *et al*, 1981). Injeksi adrenalin dicampurkan pada larutan infus yang digunakan selama percobaan, untuk keperluan ini kadar larutan adrenalin dalam infus dibuat menjadi 8 mg/L. Untuk menentukan seberapa tinggi tekanan darah yang diinginkan dilakukan dengan cara mengatur kecepatan alir infus yang bersangkutan. Untuk keperluan uji ini tekanan darah sistole pada subyek uji dibuat antara 140-160 mmHg, kisaran angka ini besarnya mendekati nilai 1,5 kali tekanan darah sistole normal pada hewan uji kucing. Rangsangan pada sistem kardiovaskuler ini dilakukan secara terus menerus lewat cairan infus yang diberikan secara intra vena selama percobaan berlangsung.

Rancangan penelitian. Digunakan rancangan acak lengkap pola searah. Hewan uji kucing teranastesi yang dibagi menjadi 2 kelompok besar yaitu kelompok hewan normotensi dan hipertensi masing-masing terdiri dari 35 ekor. Selanjutnya masing-masing kelompok dibagi

lagi menjadi 7 sub kelompok masing-masing 5 ekor, selanjutnya 1 sub kelompok dari masing-masing kelompok digunakan sebagai kontrol, sedangkan 6 sub kelompok sisanya digunakan sebagai sub kelompok yang mendapatkan perlakuan dosis tunggal Tensigard secara oral (dalam CMC Na 0,5%) yang masing-masing besarnya dosis berturut-turut adalah 1,88; 3,75; 7,5; 15; 30 dan 60 mg/kg BB.

Percobaan pengukuran efek hipotensif. Kucing teranestesi baik yang normotensi maupun yang akan dibuat hipertensi dianestesi dengan eter secara inhalasi, setelah terbius ditelentangkan pada meja operasi dengan keempat kakinya diikat pada tepi meja, pembiusan dilanjutkan dengan pemberian α -kloralose dosis 60-90 mg/kg BB secara intravena melalui pembuluh darah balik salah satu kaki depan dengan durasi 6 jam. Larutan α -kloralose dibuat dengan melarutkan serbuk α -kloralose dalam larutan borak 5%. Untuk menghindari penjendalan darah pada kanula dan pembuluh darah, kucing diberikan injeksi intravena heparin 150 unit per kg BB (Gilman *et al*, 1992). Pada bagian leher kucing dibuka dengan cutter dan dilakukan trakeotomi. Kanula trakea dipasang sehingga selama percobaan kucing dapat bernafas dengan baik. Tekanan darah sistole melalui arteri carotis communis direkam secara terus menerus dengan manometer air raksa yang dihubungkan dengan kimograf angus tabung ganda. Larutan dextrose 5% diberikan secara infus intravena untuk menjaga kondisi kucing. Pada larutan infus inilah adrenalin injeksi diberikan pada kelompok kucing hipertensi. Uji pada kucing normotensi setelah tekanan darah stabil Tensigard diberikan secara oral dengan dosis tunggal yang besarnya untuk masing-masing kelompok adalah seperti tersebut diatas. Tekanan darah sistole diukur setiap 0,5 jam hingga jam ke-3. Karena keterbatasan alat tekanan darah sistole saja yang dapat dicatat. Demikian juga untuk subyek uji hipertensi setelah tekanan darah mencapai 140-160 mmHg dan stabil, dosis tunggal Tensigard dengan kisaran dosis yang sama diberikan secara oral. Langkah selanjutnya sama seperti uji pada kelompok kucing normotensi.

Analisis Data. Tekanan darah diamati dan dicatat setiap 0,5 jam hingga jam ke-3 dan ditetapkan penurunan tekanan darah yang maksimum untuk menghitung nilai WPM (waktu

yang diperlukan untuk mencapai penurunan tekanan darah maksimum) dan DP (durasi penurunan tekanan darah) dengan cara membuat kurva hubungan antara penurunan tekanan darah (mmHg) terhadap nilai basalnya masing-masing baik kelompok normotensi maupun hipertensi vs. waktu (jam). Uji pada kucing normotensi daya hipotensif dinyatakan dengan besaran %PTDN (% penurunan tekanan darah normal) yang dinyatakan sebagai berikut :

$$\% \text{PTDN} = \frac{(TD_0 - TD_n)}{TD_0} \times 100 \%$$

dimana, TD_0 adalah tekanan darah basal dan TD_n adalah tekanan darah minimum yang bisa dicapai (pada saat nilai WPM masing-masing subyek tercapai). Untuk kelompok subyek hipertensi daya hipotensif dinyatakan dengan besaran %PTDHA (% penurunan tekanan darah hipertensi yang diinduksi adrenalin) yang dinyatakan sebagai berikut :

$$\% \text{PTDHA} = \frac{(TD_H - TD_n)}{(TD_H - TD_0)} \times 100 \%$$

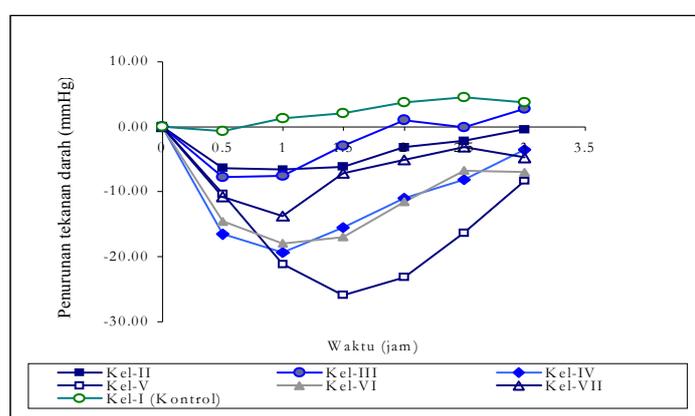
dimana, TD_H adalah tekanan darah pada kondisi hipertensi (nilai basal hipertensif), TD_0 adalah tekanan darah awal dan TD_n adalah tekanan darah minimum yang bisa dicapai (pada saat nilai WPM masing-masing subyek tercapai). Respon yang timbul karena perlakuan pemberian dosis Tensigard merupakan "Graded Response" maka besaran yang diturunkan dari hubungan dosis logaritma dosis vs. respon berupa nilai D_{50} (dosis yang bisa memberikan 50% dari respon maksimum yang mungkin timbul). Untuk keperluan perhitungan besaran ini dibuat hubungan antara dosis Tensigard yang diberikan (dalam nilai logaritma) vs. respon (dalam hal ini %PTDHA). Dari hubungan tersebut akan diperoleh kurva sigmoid dan dengan menggunakan analisis regresi non linear untuk kurva sigmoid dapat dihitung berapa besar nilai D_{50} -nya. Nilai D_{50} dihitung hanya untuk hewan uji kelompok hipertensi. Semua besaran yang digunakan pada uji ini dinyatakan dengan \bar{X} (rerata) \pm SEM (standar error of means). Untuk melihat perbedaan

nilai besaran-besaran yang diperoleh digunakan uji statistika non parametrik Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan perbandingan antar kelompok Mann-Whitney dengan taraf kepercayaan 0,95.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efek hipotensif pada kucing normotensi

Profil penurunan tekanan darah (mmHg) terhadap nilai basalnya sebagai akibat pemberian dosis (tunggal) Tensigard seperti pada gambar 1 (nilai basal tekanan darah kelompok normotensi adalah $92,00 \pm 4,19$ mmHg).



Gambar 1. kurva hubungan penurunan tekanan darah sistole (mmHg) terhadap nilai basal dalam kondisi normotensi vs. waktu (jam) dengan perlakuan beberapa dosis Tensigard (n=5).

Tabel I. Harga prosentase penurunan tekanan darah maksimum pada kucing normotensi (%PTDN).

Kelompok	Dosis Tensigard	TD ₀	TD _n	%PTDN
I.	Kontrol	101,20 ± 7,48	98,80 ± 8,59	0,93 ± 0,54
II.	1,88 mg/kg BB	83,80 ± 4,94	76,00 ± 3,70	8,86 ± 1,42*
III.	3,75 mg/kg BB	91,80 ± 3,43	82,80 ± 2,73	9,69 ± 1,68*
IV.	7,5 mg/kg BB	86,80 ± 9,05	65,40 ± 6,21	21,49 ± 2,48*
V.	15 mg/kg BB	96,40 ± 9,90	66,00 ± 6,90	31,57 ± 1,55*
VI.	30 mg/kg BB	97,40 ± 7,72	77,40 ± 9,36	21,56 ± 3,60*
VII	60 mg/kg BB	95,80 ± 8,40	80,60 ± 10,02	16,82 ± 3,67*

Keterangan :

* = berbeda bermakna terhadap kontrol ($P < 0,05$)

Data menunjukkan bahwa ada kecenderungan penurunan tekanan darah setelah pemberian dosis tunggal Tensigard pada subyek uji normotensi. Nilai WPM terjadi pada $1,08 \pm 0,06$ jam setelah pemberian dosis Tensigard sedangkan nilai DP sebesar $2,85 \pm 0,13$ jam. Adapun parameter turunan lainnya yaitu %PTDN adalah seperti pada tabel I. Daya hipotensif

tertinggi diperoleh pada dosis 15 mg/kg BB dengan nilai %PTDN sebesar $31,57 \pm 1,55$ %, kemudian pada dosis berikutnya tekanan darah cenderung kembali ke nilai basalnya, meskipun demikian nilai %PTDN pada dosis paling besar (60 mg/kg BB) memberikan perbedaan yang bermakna terhadap kelompok kontrol ($P < 0,05$). Penurunan nilai %PTDN pada dua dosis terakhir kemungkinan disebabkan timbulnya efek kounter fisiologis sebagai usaha tubuh untuk mempertahankan sistem homeostatis sehingga tekanan darah naik kembali ke nilai basalnya.

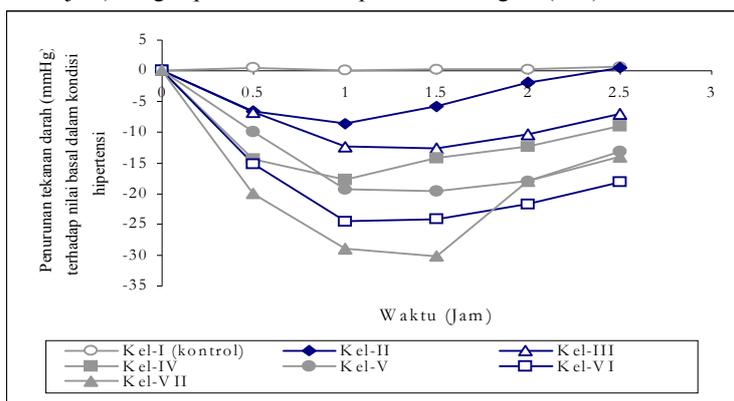
Banyak faktor yang bisa mempengaruhi tekanan darah tetapi secara garis besar tinggi rendahnya tekanan darah ditentukan oleh 3 faktor utama yaitu kapasitas kerja jantung, elastisitas pembuluh darah dan faktor darah itu sendiri yaitu nilai viskositas dan volume darah. Sehingga dengan terjadinya penurunan tekanan darah pada subyek normotensi sebagai akibat pemberian Tensigard, tentunya fitofarmaka ini mampu mempengaruhi paling tidak salah satu dari 3 faktor tersebut. Untuk mengetahui faktor mana yang berpengaruh, perlu kiranya dilakukan uji farmakodinamika tersendiri.

Dengan diketahuinya respon hipotensif bisa terjadi pada kelompok normotensi, berarti pada pemberian Tensigard nantinya perlu diperhatikan apabila tekanan darah sudah normal kembali.

Efek hipotensif pada kucing hipertensi

Hubungan antara nilai penurunan tekanan darah (mm Hg) terhadap nilai basalnya dalam kondisi hipertensi vs. waktu adalah seperti pada gambar 2. Nilai basal tekanan darah sistole setelah pemberian adrenalin adalah $153,40 \pm 2,55$ mmHg ($n=5$). Profil dari kurva tersebut identik dengan kurva yang diperoleh dari kelompok normotensi. Nilai WPM dan DP pada kelompok hipertensi berturut-turut adalah $1,07 \pm 0,15$ jam dan $2,74 \pm 0,20$ jam. Kedua besaran ini menunjukkan perbedaan tidak bermakna ($P > 0,05$) dengan besaran yang sama pada kelompok normotensi. Nilai % PTDHA yang diperoleh dari besaran-besaran yang ada tersaji pada tabel II.

Gambar 2. kurva hubungan penurunan tekanan darah sistole (mmHg) terhadap nilai basal hipertensif (153,40± 2,55 mmHg) vs. waktu (jam) dengan perlakuan beberapa dosis Tensigard (n=5).



Tabel II. Harga prosentase penurunan tekanan darah maksimum pada kucing hipertensi (%PTDHA).

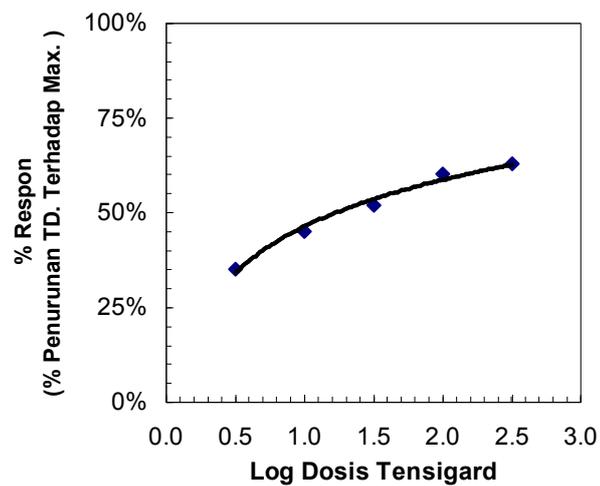
Kelompok	Dosis Tensigard	TD ₀	TD _H	TD _n	%PTDHA
I	Kontrol	98,75 ± 4,61	151,25 ± 2,81	150,50 ± 2,21	1,20 ± 1,20
II	3,75 mg/kg BB	107,00 ± 3,41	149,40 ± 7,06	138,20 ± 5,78	27,41 ± 5,09*
III	7,5 mg/kg BB	106,40 ± 8,66	149,60 ± 3,19	136,20 ± 3,48	33,38 ± 3,52*
IV	15 mg/kg BB	115,00 ± 0,61	159,00 ± 7,97	140,20 ± 8,92	44,79 ± 9,11*
V	30 mg/kg BB	104,00 ± 6,78	145,40 ± 6,05	123,40 ± 6,79	50,81 ± 5,65*
VI	60 mg/kg BB	109,00 ± 6,78	157,20 ± 7,14	128,60 ± 5,29	59,27 ± 3,15*
VII	120 mg/kg BB	104,00 ± 5,10	159,80 ± 5,15	125,00 ± 4,29	60,95 ± 4,85*

Keterangan :

* = berbeda bermakna terhadap kontrol ($P < 0,05$)

Data menunjukkan bahwa %PTDHA memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan nilai yang diperoleh pada hewan uji normotensi (%PTDN), yang mengindikasikan efek hipotensif Tensigard lebih efektif pada subyek hipertensi dibandingkan normotensi. Nilai %PTDHA cenderung naik dengan kenaikan dosis Tensigard yang diberikan dan daya hipotensif tertinggi tercapai pada kelompok VI dan VII dengan nilai %PTDHA masing-masing secara berturut-turut sebesar $59,27 \pm 3,15$ dan $60,95 \pm 4,85\%$. Kedua nilai %PTDHA tersebut menunjukkan perbedaan tidak bermakna ($P > 0,05$) yang mengindikasikan telah tercapai efek maksimal. Analisa selanjutnya untuk menghitung potensi daya hipotensi fitofarmaka ini menunjukkan bahwa hubungan antara logaritma dosis Tensigard yang diberikan dengan respon yang timbul (%PTDHA) berupa kurva sigmoid (lihat

gambar 3). Analisa regresi non linear untuk kurva sigmoid dari pasangan nilai tersebut didapatkan nilai D_{50} Tensigard sebesar $16,37 \pm 1,08$ mg/kg BB sedangkan prakiraannya pada manusia-50 kg adalah kurang lebih 249,05 mg.



Gambar 3. kurva hubungan respon (%PTDHA) vs. logaritma dosis Tensigard

KESIMPULAN

Tensigard memiliki kemampuan hipotensif baik pada subyek normotensi maupun hipertensi. Data menunjukkan bahwa efek hipotensif Tensigard pada kelompok hipertensi lebih tinggi dari kelompok normotensi. Untuk kelompok hipertensi nilai D_{50} sebesar $16,37 \pm 1,08$ mg/kg BB dan nilai tersebut identik pada manusia-50 kg sebesar lebih kurang 249,05 mg

DAFTAR PUSTAKA

- Borkowski, K.R. and Finch, L., 1977, Cardiovascular Responses to Centrally Administered Adrenaline in Spontaneous Hypertensive Rats, *Br. J. Pharmacol.*, **61(1)** : 130P.
- Donatus, I.A., Suhardjono, D., Nurlaila, Sugiyanto, Hakim, L., Wahyono., D. dan Mulyono, 1992, *Petunjuk Praktikum Toksikologi*, Edisi 1, Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Duke, 2000, Chemical and Biological Activities in : *Apium graveolens* L. (Apiaceae)-Celery seledri, *Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Database*, <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/duke/farmacy-scroll3.pl>.
- Gilman, A.G., Rall, T.W., Nies, A.S. and Taylor, P., 1992, *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th Ed., Mc Graw-Hill Inc., New York.
- Handayani, L. dan Budijanto, D., 1997, Efek Ramuan Buah Mengkudu dan Daun Kumis Kucing untuk Menurunkan Tekanan Darah pada Penderita Hipertensi, *Cermin Dunia Kedokteran*, **166** : 29-32.
- Masruhen, 2000, Perbandingan Kadar Flavonoid dan Daya Antihipertensi antara Sari Etanol 50% Daun Seledri (*Apium graveolens* L) dan Biji Seledri Terhadap Tekanan Darah Sistemik Kucing Dianastesi, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, UGM, Yogyakarta.
- Tung, L.H., Rand, M.J. and Majewski, H., 1981, Adrenaline-induced Hypertension in Rats, *Clin. Sci.*, **61 Suppl 7 (HD)** : 199s-193s.
- Windriyati, Y.N., 1997, Pengaruh Pemberian Intragastrik Fraksi Petroleum Eter, Etil Asetat, dan Air Daun Seledri (*Apium graveolens* L) terhadap Tekanan Darah Sistemik Kucing Teranastesi, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.