ISBN : 978-602-72658-1-3

Uji Respon Spasmolitik Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Batang Temabar (*Litsea Glutinosa* (Lour.) C.B.Rob.) Terhadap Trakea Marmot (*Cavia Porcellus*) Secara In Vitro

Merry Rohani[1], Medi Hendra[2], Sjarif Ismail[3]
[1]Mahasiswa Jurusan Biologi FMIPA Universitas Mulawarman
2Dosen Jurusan Biologi FMIPA Universitas Mulawarman
merryrohani92@gmail.com[1], Medihendra@yahoo.com[2], Sjarifismail@yahoo.com[3]

ABSTRACT. This research is conducted through exsperimental method of *Post Test only with Control Group*. Also, there are two treatment group in this study namely control group and extract group. Each groups was given by three treatment based on group that have been given 3 cumulative concentrations that is 0,08 mg/ml, 0,16 mg/ml and 0,32 mg/ml and was done for 3 times of repetation.The research result indicated that there was declining contraction of smooth muscle tracheal ring which was given ethanol extract of tamabar tree bark (*Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob.) after inducted with histamine with the dosage of 10^{-5} M. The reduction of tonus on this smooth muscle occurred around 0,16 mg/ml of concentration and 0,32 mg/ml, gradually 4,65% and -1,027%. A liquid of ethanol 10% indicated no tonus reduction on smooth muscle tracheal ring for the the whole concentrat. Probability score on *t-tes* showed a significant result for the there concentration with p<0,05, in concentrate of 0,16 mg/ml (p=0,013) and 0,32 mg/ml (p= <0,001).
This study show that the extract ethanol of temabar tree bark (*Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob.) can give effect of spasmolitic respond on guinea pig (*Cavia porcellus*) tracheal ring after being inducted with histamine.

Key words : Temabar tree bark (*Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob.), spasmolitic, tracheal ring.

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Asma adalah penyakit inflamasi kronis pada saluran pernafasan yang menyebabkan obstruksi saluran nafas sehingga menimbulkan gejala subjektif berupa sesak yang dapat disertai batuk, mengi, dada tertekan dan umumnya menyerang pada malam atau dini hari. Adapun hal yang menyebabkan obstruksi tersebut adalah kontraksi/spasme dari otot polos saluran pernafasan (GINA, 2011; NAC, 2006).

Penanganan asma dilakukan baik secara farmakologis maupun non farmakologis. Penanganan non farmakologis yang dilakukan adalah edukasi pasien, pemeriksaan periodik dan yang terutama adalah menghindari faktor-faktor pencetus serangan asma (Boushey dkk, 2005).

Secara farmakologis digunakan berbagai jenis obat, namun obat-obat tersebut masih banyak menimbulkan efek samping, bahkan ketergantungan yang dapat mengarah ke penggunaan yang berlebihan sehingga dapat berakibat fatal. Hal tersebut juga didukung dengan sifat asma yang kronis, sehingga membutuhkan pengobatan jangka panjang (Solomon, 2005).

Permasalahan juga timbul dari segi biaya pengobatan, yaitu obat-obat sintetis yang harganya tidak mudah dijangkau oleh seluruh kalangan masyarakat. Masalah-masalah tersebut menandakan diperlukannya pencarian obat yang berkhasiat, terjangkau dan aman untuk pengobatan. Terdapat banyak jenis tumbuhan yang telah digunakan masyarakat secara turun-temurun sebagai bahan obat dan sifat alami dari tumbuhan-tumbuhan ini membuat efek samping penggunaanya minimal sehingga menjadi obat yang aman untuk pengobatan (Malviya dan Jain, 2001).

Berdasarkan data yang diperoleh pada tahun 2012 dari sebagian masyarakat di daerah Krayan Kabupaten Nunukan

ISBN : 978-602-72658-1-3

Kalimantan Timur menunjukkan bahwa kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. telah dipergunakan untuk mengobati berbagai penyakit termasuk asma, tetapi khasiatnya dalam pengobatan asma belum pernah dibuktikan secara ilmiah.

Adapun kandungan kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. adalah alkaloid, flavonoid, dan minyak atsiri semua kandungan tersebut terlarut dalam etanol. Berbagai senyawa tersebut diduga kuat memiliki efek antioksidatif dan antiinflamasi, ditemukan bahwa kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. yang mengandung alkaloid dan flavonoid diperkirakan dapat mengobati asma melalui kinerja spasmolitik pada otot polos saluran napas.

Berdasarkan hal-hal tersebut, kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. diperkirakan memiliki efek spasmolitik. Potensi ini perlu dibuktikan secara ilmiah. Sebab itu peneliti tertarik untuk melakukan uji respon spasmolitik ekstrak etanol kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. terhadap cincin trakea *Cavia porcellus* secara in vitro.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama satu bulan yaitu pada bulan Oktober 2014, di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman, Samarinda.

3.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari alat bedah dan preparasi organ (gunting jaringan, pinset, cawan petri), alat maserasi (baker glass, gelas ukur) desikator, timbangan digital (Sartorius), oven (memmert), pH meter, thermometer digital, spuit, pipet mikro, *refrigerated incubator shacker* (lab-line), *rotator evaporator RV06-ML 1-B* (IKA), *octal bridge amplifier* dan *Recorder Power Lab/16SP* (AD Instruments), *isolated organ bath* (Ugo Basile), *isometric transducer* (Ugo Basile), dan *PC Window*® dengan program *Microsoft Office 2010, AD Instrument Chart5 for Window*® serta *SigmaStat* ™.

Bahan baku yang digunakan adalah sampel batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. bahan kimia yang digunakan terdiri dari aquades, etanol 96%, larutan Kreb's-Henselheit, larutan HCL pekat, histamin, dan gas karbogen (campuran gas 95% O_2 dan 5% CO_2).

1.2 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui ada tidaknya efek spasmolitik ekstrak etanol kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. pada organ terpisah cincin trakea *Cavia porcellus* yang diperkontraksi menggunakan histamin.

1.3 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang respon spasmolitik dari tumbuhan *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob.), dalam mengatasi asma kepada masyarakat.

2. TINJAUAN PUSTAKA

Litsea glutinosa (Lour.) C.B.Rob. merupakan salah satu spesies dari Genus *Litsea* yang termasuk ke dalam famili Lauraceae. *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. dapat hidup di hutan sekunder daerah tropis dan subtropis hingga ketinggian 300 m (Kostermans, 1957).

Marmot (*Cavia porcellus*) termasuk dalam hewan dengan famili Caviidae yang memiliki berat badan kurang-lebih 700-1100 gram dan panjang sekitar 20,3-24,5 cm, serta mempunyai bulu yang halus, mengkilap, licin agak kasar, bersih dan berwarna macam-macam (Firman, 2011).

Asma merupakan penyakit yang lebih mudah di deskripsikan dibandingkan mendefinisikannya. Berbagai usaha untuk mendefinisikan asma tidak menghasilkan sebuah persetujuan mengenai definisi asma (Alsagaff dan Mukty, 2010).

Saluran pernapasan adalah saluran yang mengalirkan udara dari atmosfer hingga alveolus yang merupakan tempat terjadinya pertukaran gas antara darah dan udara. Secara urut dari atmosfer hingga alveolus saluran pernapasan terdiri dari saluran hidung (nasal), tenggorokan (faring), kotak

ISBN :

suara (laring), trakea, bronkus, dan bronkiolus (Sherwood, 2011). Saluran pernapasan mulai bercabang di trakea, yaitu menjadi bronkus primer dekstra dan sinsitra. Masing-masing bronkus primer memasuki hilus paru dan bercabang lagi menjadi 3 bronkus lobaris di paru kanan dan 2 bronkus lobaris di paru kiri. Setiap bronkus lobaris akan terus bercabang hingga menjadi saluran yang lebih kecil dengan ujung dari percabangannya disebut bronkiolus, ketika bronkiolus memasuki lobules paru, bronkiolus ini bercabang menjadi 5-7 bronkiolus terminalis dan kemudian bronkus terminalis bercabang menjadi 2 atau lebih bronkus respiratorius yang merupakan peralihan antara bagian konduksi (saluran pernapasan) dan bagian respirasi sistem pernapasan. Dari bronkus respiratorius saluran udara terhubung ke alveolus-alveolus (Junqueira dan Carneiro, 2003).

Histamin adalah suatu mediator inflamasi lokal yang tersebar di seluruh tubuh dan sebagian besar terdapat di dalam sel mast dan basofil dalam bentuk granul pada inaktif hingga terdapat sinyal yang mencetuskan penglepasannya. Histamin memiliki berbagai efek pada tubuh baik secara fisiologis maupun patologis, seperti mencetuskan rasa nyeri, sekresi asam lambung, peningkatan permeabilitas kapiler, menimbulkan urtikaria dan lain-lain (Dewoto, 2007).

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan desain *Post Test Only With Control Group*. Sampel terdiri dari kelompok cincin trakea yang akan dinilai aktivitasnya pada pemberian ekstrak dan larutan kontrol dengan masing-masing tiga kali pengulangan. Penilaian aktivitas trakea dilakukan dengan melakukan penambahan tiga konsentrasi kumulatif ekstrak terhadap cincin cincin trakean yang sebelumnya diprekontraksi dengan histamin.

3.4 Prosedur Eksperimen

Uji respon spasmolitik dilakukan dengan 2 kelompok perlakuan yaitu kelompok yang diberikan ekstrak dan kelompok kontrol. Masing-masing kelompok tersebut diberikan perlakuan dengan pemberian 3 konsentrasi kumulatif yakni 0,08 mg/ml, 0,16 mg/ml, dan 0,32 mg/ml. setiap kelompok sebelum diberikan pemberian ekstrak dan kontrol akan dilakukan prekontraksi dengan pemberian histamin.

Cincin trakea yang telah terpasang, diekuilibrasi terlebih dahulu selama 60 menit dalam larutan *kreb's Henselheit* yang diganti dengan yang baru setiap 10 menit agar keadaan menjadi stabil.

Setelah kestabilan tercapai, dilakukan tes keutuhan otot polos cincin trakea dengan pemberian histamin 10^{-5} M. jika menunjukkan aktivitas kontraksi, maka otot polos trakea *Cavia porcellus* dinyatakan intak dan siap uji. Sebaliknya, jika tidak menunjukkan aktivitas kontraksi, maka otot polos trakea *Cavia porcellus* dinyatakan rusak dan dilakukan preparasi organ terpisah cincin trakea ulang.

Pengujian dimulai dengan ekuilibrasi ulang cincin trakea lalu di prekontraksikan dengan histamin yang kemudian diikuti dengan perlakuan kontrol yaitu pemberian larutan etanol 10% secara kumulatif masing-masing tiga kali pengulangan dengan konsentrasi 0,08 mg/ml, 0,16 mg/ml, dan 0,32 mg/ml terhadap cincin trakea.

Setelah data kontrol penelitian diperoleh, trakea kembali diganti pada alat *transduser isometric* kemudian diekuilibrasi terlebih dahulu selama 60 menit dalam larutan *kreb's Henselheit* yang diganti dengan yang baru setiap 10 menit proses ekuilibrasi berjalan. Cincin trakea yang telah terpasang stabil kembali diprekontraksi dengan histamin lalu diberi ekstrak etanol kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. secara kumulatif masing-masing tiga kali pengulangan dengan konsentrasi 0,08 mg/ml, 0,16 mg/ml, dan 0,32 mg/ml terhadap cincin trakea. Selanjutnya diamati besarnya respon dilatasi otot polos cincin trakea terhadap pemberian ekstrak etanol kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. pada alat pencatat *AD Instrument* dan dibandingkan dengan kontrol.

ISBN : 978-602-72658-1-3

3.5 Analisis Data

Data diproses dengan program *SigmaStat* disajikan dalam bentuk mean ± SD (*Standard deviasi of mean*). Data terlebih dahulu dilakukan uji normalitas, bila data berdistribusi dengan normal selanjutnya dianalisa dengan menggunakan *t-test* untuk membandingkan rata-rata respon penurunan tonus otot polos trakea pada pemberian ekstrak etanol kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. dan kontrol. Perbedaan akan nyata jika p <0,05.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Hasil perhitungan rata-rata dari persen respon tonus cincin trakea *Cavia porcellus* yang diberikan larutan kontrol dan ekstrak etanol kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. dapat dilihat pada tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1: Tabel Persen Respon Tonus Cincin Trakea *Cavia porcellus* Terhadap Pemberian Kontrol dan Ekstrak Kulit Batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob.

Konsentrasi (mg/mL)	Tonus Cincin Trakea (%)		Sig
	Kontrol Mean ± SD	EELG Mean ± SD	
0,08	8,55 ± 1,601	7,43 ± 1,178	0,384
0,16	9,31 ± 1,203	4,64 ± 1,444*	0,013
0,32	10,177 ± 1,803	-1,027 ± 0,99*	<0,001

Keterangan:
n=3 ekor marmot.
EELG= Ekstrak Etanol Kulit Batang Litsea Glutinosa (Lour) C.B.Rob
Uji statistik dengan t-test, berbeda bermakna jika p<0,05
*berbeda bermakna jika dibandingkan dengan kontrol

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini dapat telihat bahwa kelompok Kontrol terjadi peningkatan persen tonus cincin trakea *Cavia porcellus* dengan semakin meningkatnya konsentrasi Kontrol pada organ terpisah cincin trakea, yakni 8,55%, 9,31%, dan 10,177%. Artinya larutan kontrol yang diberikan pada organ terpisah cincin trakea dapat menyebabkan spasmodik pada trakea.

Pada pemberian ekstrak etanol kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. terjadi penurunan persen tonus cincin trakea, dengan semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak pada organ terpisah cincin trakea, artinya larutan ekstrak etanol kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. yakni pada konsentrasi 7,43%, 4,643%, -1,027%. yang diberikan pada organ terpisah cincin trakea dapat menyebabkan spasmolitik pada trakea.

Nilai mean kelompok kontrol dan ekstrak etanol kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. yang dilakukan uji normalitas data *Shapiro-Wilk* memperlihatkan bahwa distribusi data normal, dengan nilai probabilitas pada konsentrasi 0,08 mg/ml, 0,16 mg/ml, dan 0,32 mg/ml berturut-turut adalah 0.311, 0.324, dan 0.882 sehingga analisis dapat dilanjutkan dengan *t-test*, *t-test* pada setiap konsentrasi menghasilkan nilai p<0,05 (konsentrasi 0,08 mg/ml nilai p= 0.384, konsentrasi 0,16 mg/ml nilai p= 0.013, konsentrasi 0,32 mg/ml nilai p=0.001) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antara nilai perubahan tonus otot polos yang diberikan ekstrak etanol kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. dibandingkan dengan yang diberikan larutan kontrol.

Hasil *t-test* menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara rata-rata respon persen tonus cincin trakea *Cavia porcellus* yang diberikan ekstrak etanol kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. pada konsentrasi 0,16 mg/ml, dan 0,32 mg/ml dengan nilai p<0,05 yakni berturut-turut 0,013 dan <0,001. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. dapat menurunkan kontraksi cinci trakea yang diinduksi dengan histamin secara bermakna.

ISBN :

Semakin tinggi pemberian konsentrasi kumulatif ekstrak etanol kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. pada trakea *Cavia porcellus* maka dapat menimbulkan respon spasmolitik.

Penelitian oleh Hidayat (2013) yang menunjukkan efek dari ekstrak kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. secara bermakna menyebabkan relaksasi dengan mekanisme langsung pada otot polos. Metabolit sekunder golongan terpenoid yang dilaporkan berperan pada proses ini adalah sitosterol, kemungkinan mekanisme kerja relaksasi yang langsung pada otot polos adalah sebagai antagonis reseptor adrenergik-α1 baik yang kompetitif maupun non kompetitif, sehingga sinyal taransduksi melalui protein G q dan stimulasi enzim myosin protein chain (PLC) tidak terjadi. Hal ini mengakibatkan turunnya kontraksi oleh fenilefrin sebagai agonis adrenergik-α1. Alternatif lain kemungkinan dalam ekstrak etanol kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. terdapat substansi analog nitric oxide (NO). NO menstimulasi guanilil siklase menjadi guanilat siklase sehingga terjadi peningkatan cGMP yang selanjutnya mengaktivasi protein kinase G (PKG). PKG menyebabkan defosforilasi myosin light chain (MLC) dan penurunan kadar Ca 2+ intrasel sehingga kontraksi tidak terjadi. Mekanisme relaksasi pada otot polos dapat pula melalui mekanisme penghambatan kanal Ca seperti pada Ca 2+ channel blocker atau bisa saja melalui aktivasi kanal ion K+. Untuk memastikan mekanisme relaksasi yang langsung melalui otot polos aorta masih perlu penelitian lebih lanjut.

Dari hasil penelitian dan kajian teori di atas dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. dapat menurunkan kontraksi otot polos cincin trakea *Cavia porcellus* yang diinduksi dengan histamin. Penelitian ini juga membuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob yang diberikan maka semakin menurunan pula kontraksi otot polos cincin trakea yang terjadi.

5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. dapat menimbulkan efek spasmolitik pada cincin trakea *Cavia porcellus* yang diinduksi oleh histamin, pada konsentrasi 0,08 p= 0,384, konsentrasi 0,16 p=0,013 dan konsentrasi 0,32 p=0.001.

5.2 Saran

Penelitian ini merupakan penelitian dasar dalam pengembangan obat tradisional, sehingga penelitian lebih lanjut pada tanaman *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. diharapkan:

1. Dapat dilakukan pada berbagai bentuk pelarut ekstrak, sehingga dapat dibandingkan dan diketahui bentuk pelarut yang paling efektif untuk memaksimalkan potensi dari metabolit sekunder yang terkandung didalamnya.
2. Dapat dilakukan isolasi metabolit dari batang *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. untuk mengetahui metabolit yang memiliki pengaruh besar dalam memberikan respon spasmolitik otot pols pada cincin trakea dan dapat diketahui mekanisme kerjanya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Alsagaff, Hood dan Mukti, Abdul. 1995. *Dasar-dasar Ilmu Penyakit Paru*. Surabaya: Airlangga University Press.
2. Balitbangkes. 2008. *Riset-riset Dasar Negara 2007*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
3. Barnes, P. J. 1998. Pharmacology of Airway Smooth Muscle. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 123-132.
4. Burkhalter, A., Julius, D. dan Frick, O. L. 1997. *Histamin, Serotonin & alkaloid Ergot.* Dalam: Katzung, Betram G. Editor. *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi 5*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI
5. Bourne, H. R., & Zastrow, M, V. 2004. Drug Receptor & Pharmacodinamics. Dalam Katzung. *Basic & Clinical Pharmacology*. 11-33.

ISBN : 978-602-72658-1-3

6. Broucke, C. V. & Lemli, J. 1983. Spasmolytic Activity of the Flavonoids from Thymus Vulgaris. *Pharmacy World & Scince*. 9-14
7. Chan, S. W. Li, P., Kwan, Y. W. & Lin, G. 2011. In Vitro Tracheobronchial Relaxtion of Fritillaria Alkaloids. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 345-353.
8. Cornelio, M. Barbosa-Filho, J, Cortes, S. & Thomas, G. 1999. Tracheal Relaxant Activity of Cissaglaberrimine and Triolobinne, Two Aporphinic Alkaloids from Cissampelogslaberrima. *Planta Medica.* 462-464.
9. Ebadi, M. 2002. *Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine.* Boca Raton: CRC Press LLC.
10. GINA. 2011. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. *http://*www.ginasthma.org. Diakses pada tanggal 10 September 2014.
11. Guyton, A. C. Dan Hall, J. E. 2006. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran* (11 th ed.). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
12. Hall, I. P. 2002. Second Massengers, Ion Channelss and Pharmacology of Airway Smooth Muscle. *The Airway Smooth Muscle*. 1120-1127.
13. Hidayat,T. Endang S. W. & Setyawati S. K. 2013. The Effect of *Litsea glutinosa* (Lour.) C.B.Rob. Extract To Isolated Guinea Pig Aorta Without Endothelium (*Cavia Porcellus*). Yogyakarta: Universitas Kedokteran Brawijaya.
14. Huxley, C. R. & Jebb, M. H. P. 1993. *The Glutinosa Epiphytes of Lauracea 5: A Retvision of Litsea.* Jurnal Blumea. Volume 37.