

RESPON TRAKEOSPASMOLITIK EKSTRAK METANOL DAUN *Macaranga lamellata* Whitmore SECARA IN VITRO

IN VITRO TRAKEOSPASMOLITIC RESPONSE OF METHANOL EXTRACTS OF *Macaranga lamellata* Whitmore LEAVES

Irvan Afandi*, Winni Astuti dan Eva Marlina

Program Studi S1 Kimia FMIPA Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua Samarinda-Indonesia

*Corresponding Author: irvanafandi.ia@gmail.com

Received: 2 January 2022, Accepted: 18 January 2022

ABSTRACT

The research about in vitro tracheospasmolytic response of methanol extract of *Macaranga lamellata* Whitmore leaves was carried out. This research was conducted to determine the spasmolytic effect of the methanol extract of *Macaranga lamellata* Whitmore leaves on changes in separate organ of the guinea pig ring tracheal. The methods used include the bioassay isolated organ with two groups of treatment, control group and extract group. Methanol extract was given cumulatively on the organ bath. Positive control is used aminofilin and negative control is used DMSO solvent. Phytochemical test results showed that total methanol extract contained alkaloids, polyphenol, steroids, flavonoids dan saponins while phytochemical test results showed on ethyl acetate fraction contained alkaloids, polyphenol, steroids, quinons dan flavonoids. The Percentage change in tracheal smooth muscle as a spasmolytic response by using methanol extract with cumulative concentration of 0.3, 1 and 3 mg/mL respectively -24.925%; -29.865% and -36.795% . This research is shown methanol extract of *Macaranga lamellata* Whitmore leaves have antiasthma effect based on the tracheospasmolytic activity.

Keywords: *Antiasthma, Bioassay isolated organ, Macaranga lamellata Whitmore, Marmot, Tracheospasmolytic..*

PENDAHULUAN

Asma adalah penyakit inflamasi kronis yang terjadi pada saluran pernafasan sehingga menyebabkan penyempitan saluran pernafasan karena kontraksi dari otot polos saluran pernafasan dengan memberikan gejala berupa sesak yang disertai batuk dan dada tertekan [1]. Asma menjadi salah satu masalah kesehatan utama baik di negara maju maupun di negara berkembang. Angka kejadian asma di Indonesia berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar tahun 2018 mencapai 2,4%. Data tersebut menunjukkan bahwa asma juga merupakan masalah kesehatan bagi masyarakat Indonesia sehingga dibutuhkan perhatian dan penanganan yang baik terhadap penyakit asma [2].

Ada dua cara dalam penanganan asma, yaitu secara farmakologis maupun non farmakologis. Penanganan secara non farmakologis dapat berupa pemberian edukasi tentang pentingnya pemeriksaan secara berkala dan menghindari faktor-faktor yang dapat menyebabkan penyakit asma [3]. Adapun secara farmakologis dapat menggunakan obat, namun

seringkali obat memberikan efek samping dari penggunaannya apabila berlebihan serta menimbulkan permasalahan biaya yang tidak mudah dijangkau oleh seluruh lapisan masyarakat, sehingga perlu dilakukan pencarian obat lain yang dapat memberikan khasiat dan aman serta terjangkau untuk pengobatan. Salah satunya obat-obat yang berasal dari tumbuhan yang telah digunakan oleh masyarakat secara turun temurun dan memberikan sifat alamiah berupa efek samping yang aman untuk pengobatan [4].

Data etnobotani menunjukkan bahwa tumbuhan *Macaranga* telah dipergunakan untuk mengobati berbagai penyakit termasuk asma, tetapi khasiatnya dalam mengobati asma belum pernah dibuktikan secara ilmiah. Salah satu tumbuhan obat yang sering digunakan masyarakat dari genus *Macaranga* yaitu *Macaranga lamellata* Whitmore[5]. Berdasarkan penelitian sebelumnya pada fraksi etil asetat daun *Macaranga lamellata* Whitmore mengandung flavonoid [6]. Kandungan metabolit sekunder flavonoid dari *Macaranga lamellata* Whitmore diduga dapat mengobati asma melalui kinerja

spasmolitik pada otot saluran nafas. Kandungan flavonoid seperti tanarifuranonol, *tanariflavonone C* dan *tanariflavonone D* memiliki aktivitas antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Adanya aktivitas antioksidan dalam menangkap radikal bebas juga mampu memberikan efek antiinflamasi yang membantu menghambat pembentukan prostaglandin dengan menangkap radikal bebas yang berperan dalam pembentukan inflamasi. Antioksidan akan menghambat inisiasi pembentukan radikal bebas atau menginaktifkan radikal bebas dan menghentikan kerusakan yang diakibatkan oleh adanya radikal bebas.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan antara lain *isolated organ bath* dua chamber, *octal bridge amplifier*, *transducer isometric*, pH meter, neraca analitik dan pipet mikro.

Bahan

Bahan yang digunakan antara lain larutan *Kreb's-Henseilheit*, aquades, ekstrak metanol daun *Macaranga lamellata* W., aminofilin, ketamin, histamine 10^{-2} M, DMSO_(p), gas karbogen, larutan HCl_(p).

Prosedur Penelitian

Preparasi organ terpisah cincin trakea dengan sedikit modifikasi [7]. Satu hari sebelum penelitian dilakukan, hewan uji coba berupa marmot dengan berat 250-350 gram dipuaskan makan selama semalam, namun akses minum tetap diberikan. Sebelum diambil trakeanya, marmot dianestesi dengan menyuntikkan ketamin 1 mL ke intraperitoneal. Kemudian setelah hewan coba tenang dan tertidur dilakukan terminasi dengan cara dislokasi servikal. Lalu dilakukan pembedahan dengan membuka abdomen dan thorak sampai trakea marmot terlihat. Selanjutnya dilakukan diseksi trakea dari pangkal trakea hingga percabangan bronkus. Kemudian trakea diletakkan dalam cawan petri yang berisi larutan *Kreb's-Henseilheit* dan trakea dibersihkan dari jaringan ikat yang melekat secara hati-hati. Trakea dipotong dengan panjang sekitar ± 3 mm. Selanjutnya cincin trakea disuspensikan pada *organ bath* 10 mL yang berisi larutan *Kreb's-Henseilheit* dengan pH 7,4 dan suhu 37 °C serta dialiri gas karbogen (oksigen 95% dan karbondioksida 5%). Untuk teknik pemasangan trakea pada *transduser isometrik* sesuai dengan yang dideskripsikan penelitian sebelumnya [8]. Setelah cincin trakea terpasang maka segera dihubungkan dengan alat amplifikasi perekam digital *AD instruments* dengan program Chart V.5.

Cincin trakea yang telah terpasang, diekuilibrasi terlebih dahulu selama 90 menit dalam larutan *Kreb's-Henseilheit* dan diganti dengan yang baru selama 15

menit agar keadaan menjadi stabil. Setelah stabil, diuji menggunakan histamin dengan konsentrasi akhir 10^{-2} M. Jika cincin trakea memberikan respon peningkatan tonus otot polos, maka cincin trakea layak untuk digunakan. Sebaliknya jika tidak memberikan respons peningkatan otot polos maka cincin trakea dinyatakan rusak dan dilakukan pemotongan cincin trakea ulang. Selanjutnya, cincin trakea yang layak digunakan dibilas dengan larutan *Kreb's-Henseilheit* yang baru dan dilakukan ekuilibrasi kembali selama 90 menit [9].

Setelah otot polos trakea dinyatakan intak, kembali dilakukan pemberian histamin, jika sudah mencapai kontraksi submaksimal selama satu menit, selanjutnya diberikan aminofilin dengan konsentrasi kumulatif sebagai kontrol positif dan kemudian ekstrak. Trakea diberi ekstrak metanol daun *Macaranga lamellata* Whitmore yang sebelumnya telah dilakukan eksplorasi konsentrasi pada uji pendahuluan, yakni 0,3 mg/mL; 1 dan 3 mg/mL. Penambahan konsentrasi ekstrak metanol daun *Macaranga lamellata* Whitmore dilakukan secara kumulatif. Selanjutnya diamati besarnya respon spasmolitik otot polos cincin trakea terhadap pemberian ekstrak metanol daun *Macaranga lamellata* Whitmore pada alat pencatat *AD Instrument* dan dibandingkan dengan kontrol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia Daun *Macaranga lamellata* Whitmore

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat di dalam sampel. Dapat diketahui pula senyawa yang diduga bertanggung jawab dalam menimbulkan respon spasmolitik. Hasil skrining fitokimia pada daun *Macaranga lamellata* Whitmore dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol dan Fraksi Etil Asetat Daun *Macaranga lamellata* Whitmore

Golongan Senyawa	Ekstrak Metanol
Alkaloid	+
Polifenol	+
Steroid	+
Triterpenoid	-
Flavonoid	+
Saponin	+
Kuinon	-

Keterangan: (+) = Menunjukkan hasil positif.
(-) = Menunjukkan hasil negatif.

Uji Trakeaspasmolitik Ekstrak Metanol Daun *Macaranga lamellata* Whitmore

Uji aktivitas trakeaspasmolitik ekstrak metanol daun *Macaranga lamellata* Whitmore dilakukan pada organ terpisah cincin trakea dengan menggunakan metode *in vitro* (*bioassay isolated organ*). Metode ini merupakan prosedur standar untuk mengetahui efek suatu agen pada target organ secara langsung tanpa dipengaruhi oleh faktor farmakokinetik berupa absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi. Metode ini juga menyingkirkan sistem tubuh yang dapat mempengaruhi regulasi kontraksi dan dilatasi otot polos selain dari perlakuan yang diberikan, sehingga respon spasmolitik yang terjadi murni karena pemberian ekstrak metanol dan fraksi etil asetat daun *Macaranga lamellata* Whitmore yang diberikan. Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah marmot. Marmot menjadi hewan yang dipilih karena marmot merupakan salah satu hewan yang sensitif terhadap histamin, memiliki ukuran trakea yang cukup besar [10]. Trakea dipilih sebagai organ target karena trakea memiliki struktur yang mirip dengan bronkus.

Histamin merangsang terjadinya kontraksi melalui mekanisme aktivasi reseptor H1 pada sel otot polos yang menimbulkan peningkatan hidrolisis fosfoinositol (IP3) serta peningkatan kalsium intraseluler. Kemudian peningkatan Ca^{2+} akan mengaktivasi ikatan Ca^{2+} dan calmodulin, sehingga miosin-kinase aktif dan terjadi *sliding* aktin miosin yang menimbulkan kontraksi otot [10]. Histamin ditambahkan dalam *organ bath* yang berisi otot polos trakea marmot. Histamin yang berikatan dengan reseptor yang terdapat pada trakea marmot menimbulkan vasokonstriksi yang terlihat pada alat pencatat *AD instruments* dan menampilkan bentuk grafik pada layar monitor. Perubahan tonus otot polos cincin trakea dihitung dalam Δg , yakni perubahan tonus otot polos yang merupakan selisih antara tonus otot akhir setelah perlakuan dan tonus awal saat kontraksi submaksimum.

Hasil analisa data ditampilkan dalam bentuk Mean \pm SE. Hasil yang diperoleh pada respon trakeaspasmolitik ekstrak metanol daun *Macaranga lamellata* Whitmore dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Respon Trakeaspasmolitik Otot Polos Cincin Trakea Menggunakan Ekstrak Metanol, Kontrol Negatif dan Kontrol Positif.

Perlakuan	Mean Spasmolitik Trakea	\pm	SE	Normality Test	One Way Anova
Ekstrak Metanol Konsentrasi 0,3 mg/mL	-24,925	\pm	1,201		
Kontrol Negatif Konsentrasi 0,3 mg/mL	-2,550	\pm	0,478	0,446*	0,001#
Kontrol Positif Konsentrasi 0,05 mg/mL	-8,742	\pm	0,442		
Ekstrak Metanol Konsentrasi 1 mg/mL	-29,865	\pm	0,656		
Kontrol Negatif Konsentrasi 1 mg/mL	-3,338	\pm	0,324	0,661*	0,001#
Kontrol Positif Konsentrasi 0,07 mg/mL	-13,001	\pm	0,579		
Ekstrak Metanol Konsentrasi 3 mg/mL	-36,795	\pm	1,699		
Kontrol Negatif Konsentrasi 3 mg/mL	-3,996	\pm	0,187	0,708*	0,001#
Kontrol Positif Konsentrasi 0,16 mg/mL	-17,782	\pm	1,173		

Keterangan: n=3 ekor, *data terdistribusi normal jika $p > 0,05$; #Uji *one way* Anova berbeda bermakna jika $p < 0,05$.

Berdasarkan hasil uji *one way* Anova didapatkan bahwa nilai persentase respon spasmolitik trakea marmot pada ekstrak metanol daun *Macaranga lamellata* Whitmore yang dibandingkan dengan kontrol negatif dan positif berbeda secara signifikan pada 3 konsentrasi yaitu pada konsentrasi metanol 0,3

mg/mL ($p < 0,001$), konsentrasi 1 mg/mL ($p < 0,001$) dan konsentrasi 3 mg/mL ($p < 0,001$). Ekstrak metanol daun *Macaranga lamellata* Whitmore menunjukkan aktivitas spasmolitik yang dapat dilihat dari kemampuan ekstrak metanol daun *Macaranga lamellata* Whitmore dalam

menimbulkan penghambatan spasmolitik. Hasil menandakan bahwa semakin besarnya konsentrasi ekstrak metanol daun *Macaranga lamellata* Whitmore maka efek penurunan respon spasmolitik otot polos trakea semakin besar pula, sehingga terdapat hubungan antara kenaikan konsentrasi ekstrak metanol daun *Macaranga lamellata* Whitmore dengan efek penurunan respon spasmolitik yang dihasilkan. Aktivitas dilatasi spasmolitik cincin trakea marmot diduga karena kandungan metabolit sekunder yang ada di dalam ekstrak metanol daun *Macaranga lamellata* Whitmore. Golongan metabolit sekunder yang ada di dalam ekstrak metanol daun *Macaranga lamellata* Whitmore adalah alkaloid, flavonoid, steroid, polifenol dan saponin. Histamin dapat bertindak sebagai mediator alergi dan inflamasi. Inflamasi disebabkan oleh adanya kerusakan yang terjadi pada membran sel akibat rangsangan kimiawi, fisik, ataupun mekanik dan dipengaruhi oleh adanya pelepasan mediator kimiawi dari jaringan yang rusak serta terjadinya migrasi sel. Kerusakan dari sel akan memicu terjadinya pembebasan asam arakidonat dan dapat diuraikan menjadi prostaglandin, suatu mediator inflamasi di dalam tubuh yang diperantarai oleh enzim siklooksigenase (COX). Oksidan reaktif seperti radikal bebas yang bersifat relatif tidak stabil (reaktif) juga dihasilkan pada daerah peradangan yang berkontribusi pada kerusakan jaringan. Radikal bebas diartikan sebagai molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbit luarnya sehingga relatif tidak stabil. Untuk mendapatkan kestabilannya, molekul yang bersifat reaktif tersebut mencari pasangan elektronnya, sehingga disebut juga sebagai *Reactive Oxygen Species* (ROS). Sumber utama radikal bebas pada mamalia diantaranya pada proses sintesis prostaglandin. Radikal bebas yang berlebih akan menyebabkan kerusakan jaringan dan menimbulkan peradangan. Dalam proses peradangan, radikal bebas terbentuk ketika asam arakidonat dikonversi menjadi endoperoksida melalui jalur siklooksigenase dan hidroperoksida melalui jalur lipooksigenase sehingga terjadi pelepasan mediator inflamasi. Ketika terjadi kerusakan lingkungan, jumlah radikal bebas meningkat seiring dengan peningkatan produksi peroksida, padahal tubuh memproduksi antioksidan endogen yang terbatas, seperti superoksida dismutase (SOD) yang bekerja menstabilkan radikal. Apabila jumlah radikal bebas makin banyak, antioksidan endogen tidak mampu lagi mengatasinya secara efektif sehingga dibutuhkan antioksidan dari luar (eksogen).

Metabolit sekunder yang berperan dalam respon trakeospasmolitik salah satunya adalah flavonoid. Senyawa flavonoid termasuk dalam

golongan senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan, hal ini karena senyawa tersebut merupakan senyawa fenol yang mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen, sehingga dapat menstabilkan radikal bebas [11]. Investigasi biokimia juga menunjukkan bahwa flavonoid menimbulkan efek antiinflamasi dengan menghambat jalur siklooksigenase dan lipooksigenase dari metabolisme asam arakidonat berdasarkan struktur yang dimilikinya. Alkaloid dikaitkan dengan tipe rantai berdasarkan sistem cincin piridin menunjukkan aktivitas antiinflamasi. Saponin diduga bekerja dengan menghambat dehydrogenase prostaglandin, sehingga peradangan dapat dikurangi. Steroid dalam daun *Macaranga lamellata* diduga memiliki mekanisme kerja menghambat fosfolipase sehingga mencegah pelepasan awal asam arakhidonat yang diperlukan untuk mengaktifasi jalur enzim berikutnya [10].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah diuraikan, maka dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak metanol daun *Macaranga lamellata* Whitmore memiliki respon trakeospasmolitik dengan nilai penurunan respon trakeospasmolitik pada konsentrasi 3 mg/mL sebesar -36,795%.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] GINA. 2019. *Global Strategy for Asthma Management and Prevention*. <http://www.ginasthma.org>. Diakses pada tanggal 04 Desember 2019.
- [2] Balitbangkes. (2018). *Riset Kesehatan Dasar Negara 2018*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [3] Boushey, H. A., Corry, D. B., Fahy, J. V., Buchard, E. G. & Woodruff, P. G. 2005. "Asthma. In R. J. Mason, V. C. Broaddus, F. J. Murray, & J. A. Nadel, *Textbook Of Respiratory Medicine*". Elsevier Saunders 1168-1216.
- [4] Malviya, N. dan Jain, S. 2011. "Antiasthmatic Potential of Indigenous Medicinal Plants". *Spatula DD.*, 43-50.
- [5] Sidiyasa, K. (2015). *Jenis-jenis Pohon Endemik Kalimantan*. Balai Penelitian Konservasi Sumber Daya Alam.
- [6] Puspita, S. I. 2018. "Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Fenolik pada Fraksi Etil Asetat Daun *Macaranga lamellata*". *Skripsi FMIPA Unmul*.
- [7] Asfar, A. I. I., Safitri, Y., Wahyuino dan Susidarti, R. A. 2011. "Isolasi Penentuan Struktur Senyawa Aktif Trakeospasmolitik Dari

- Daun *Vitex pinnata*". *Laporan Penelitian Hibah Penelitian Kerjasama antar Perguruan Tinggi*. Universitas Mulawarman.
- [8] Kosala, K. dan Ismail, S. 2007. "Aktivitas Kontraktilitas Aorta Pada Ekstrak Daun *Andropogon paniculata*". *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia XXXII*, L-05, 20-25.
- [9] Ismail, S. dan Yuniati. 2016. "Aktivitas Vasodilatasi Pembuluh Darah secara in vitro dan Uji Toksisitas Akut Minuman Fungsional Herbal Kaltim". *J. Trop. Pharm. Chem* 3 (3), 2407-6090.
- [10] Katzung, B. G. (2004). *Histamine, Serotonin, & the Ergot Alkaloids*. In B. G. Katzung, *Basic & Clinical Pharmacology*. Kuala Lumpur: The McGraw-Hill Companies.
- [11] Kurniawaty, A. Y. (2010). *Efek Antiinflamsi Ekstrak Metanol-Air Daun *Macaranga tanarius L.* Pada Mencit Betina Galur Swiss*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.