

ANALGESIC EFFECT OF COMBINATION OF ESSENTIAL OIL *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. AND ITS CURCUMINOIDS IN MICE

PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI MINYAK ATSIRI RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) DAN KURKUMINOIDNYA TERHADAP EFEK ANALGETIK PADA MENCIT

Arko Jatmiko Wicaksono, Nunung Yuniarti, Suwijiyo Pramono*

Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada, Skip Utara 55281, Yogyakarta, Indonesia

ABSTRACT

The study was conducted to determine the analgesic effect of the essential oil of ginger rhizome (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.), Kurkuminoid, and a combination of both. Extracting of kurkuminoid performed with ethyl acetate and hexane solvent. Essential oil obtained from the water-steam distillation. Analgesic test was conducted using formalin test (20 μ L 1% formalin, intraplantar) against the Swiss strain male mice (30 \pm 5g), age 2 months. Test group includes 0.5% CMC-Na P.O. (Negative control), indomethacin 4mg/kg P.O. and i.p. (Positive control), kurkuminoid 48mg/kg po, essential oil 24mg/kg po, po and their combinations Formalin injection was performed 1 hour after sample treatment. Data licking time taken in Phase I (0-5min) and phase II (10-30min) after formalin injection. Phase I indicate pain that occurs in the central nervous system (CNS), while phase II in the peripheral area. The results of the phase I trials show analgesic power of indomethacin po (4.96 \pm 3.26%) and ip (4.54 \pm 1.65%). Kurkuminoid and each essential oil (1.22 \pm 0.89%) and (28.8 \pm 8.48%), while the mixture (42.14 \pm 5.6%). Kurniawan (2007) reported that the magnitude of phase I of the power analgesic morphine 5mg/kg po was (69.68 \pm 2.17%). In phase II of essential oils have analgesic power of (74.63 \pm 1.97%), a mixture of essential oil (24mg/kg) and kurkuminoid (48mg/kg) has analgesic power of (67.56 \pm 0.59%), indomethacin ip (49.46 \pm 1.08%) and po (49.82 \pm 0.91%), and kurkuminoid (44.80 \pm 1.46%).

Keywords: ginger, curcuminoid, analgesic, pain

ABSTRAK

Penelitian dilakukan untuk mengetahui efek analgetik dari minyak atsiri rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.), kurkuminoid, dan kombinasi keduanya. Penyarian kurkuminoid dilakukan dengan pelarut etil asetat dan heksan. Minyak atsiri diperoleh dari hasil destilasi air-uap. Uji analgetik dilakukan dengan metode formalin tes (20 μ L formalin 1%, intraplantar) terhadap mencit jantan galur Swiss (30 \pm 5g), umur 2 bulan. Kelompok uji meliputi CMC-Na 0,5 % p.o. (kontrol negatif), indometasin 4 mg/kgBB p.o. dan i.p. (kontrol positif), kurkuminoid 48 mg/kgBB p.o., minyak atsiri 24mg/kgBB p.o, serta kombinasinya p.o. Injeksi formalin dilakukan 1 jam setelah pemejanan sampel. Data licking time diambil pada fase I (menit 0-5) dan fase II (10-30menit) setelah injeksi formalin. Fase I mengindikasikan nyeri yang terjadi pada daerah susunan saraf pusat (SSP) sedangkan fase II pada daerah perifer. Hasil uji terhadap fase I menunjukkan daya analgetik indometasin p.o sebesar (4,96 \pm 3,26 %) dan i.p. (4,54 \pm 1,65%). Kurkuminoid dan minyak atsiri masing-masing (1,22 \pm 0,89%) dan (28,8 \pm 8,48%), sedangkan campuran (42,14 \pm 5,6%). Kurniawan (2007) melaporkan bahwa besarnya daya analgetik fase I pada morfin 5 mg/kgBB p.o. adalah (69,68 \pm 2,17%). Pada fase II minyak atsiri memiliki daya analgetik sebesar (74,63 \pm 1,97%), campuran minyak atsiri (24mg/kgBB) dan kurkuminoid (48 mg/kgBB) memiliki daya analgetik sebesar (67,56 \pm 0,59%), indometasin i.p. (49,46 \pm 1,08%) dan p.o (49,82 \pm 0,91%), serta kurkuminoid (44,80 \pm 1,46%).

Kata kunci: temulawak, kurkuminoid, analgetik, nyeri.

Corresponding author : Suwijiyo Pramono
E-mail: suwijiyo_pramono@yahoo.com

PENDAHULUAN

Nyeri dapat diterjemahkan sebagai sebuah sinyal peringatan apabila akan terjadi suatu kerusakan jaringan. Secara klinis, nyeri adalah apapun yang diungkapkan oleh pasien mengenai sesuatu yang dirasakannya sebagai suatu hal yang tidak menyenangkan atau sangat mengganggu (Dharmady dan Triyanto, 2004). Hingga saat ini obat Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) merupakan salah satu obat yang banyak dipakai dalam penanganan sakit akibat nyeri.

Obat AINS disukai karena memiliki kemampuan antipiretik, analgesik, dan anti inflamasi. Obat AINS dibagi menjadi yang selektif terhadap siklooksigenase-1 (COX-1) dan selektif terhadap siklooksigenase-2 (COX-2). Namun kemudian diketahui bahwa obat AINS yang selektif terhadap COX-1 memiliki efek samping menyebabkan perdarahan pada saluran cerna. Di sisi lain beberapa obat AINS yang selektif terhadap COX-2 ditemukan berisiko terhadap kardiovaskular (Daniel, 2006), sehingga perlu dicari obat baru yang dapat mengatasi rasa nyeri tanpa menimbulkan efek samping yang merugikan.

Tanaman mempunyai andil besar dalam menghasilkan senyawa kimia baru yang penting dan berguna bagi pengobatan, maupun sebagai bahan pengetahuan (Dianita, 2007). Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) adalah salah satu jenis tanaman yang dilaporkan berkhasiat sebagai analgetika. Ekstrak metanol temulawak yang diberikan secara per oral pada tikus percobaan, dinyatakan dapat menekan rasa sakit yang diakibatkan oleh injeksi asam asetat (Purnomowati, 1997). Kurkumin merupakan salah satu senyawa yang banyak ditemukan dalam tumbuhan *Zingiberaceae* termasuk temulawak. Keamanan penggunaan senyawa golongan kurkuminoid dalam jangka panjang juga sudah teruji. Meski belum diperoleh data mengenai keamanan penggunaan kurkuminoid dari rimpang temulawak, namun dari hasil uji toksisitas kronis pada tikus, penggunaan kurkuminoid rimpang kunyit dosis 50 mg/kgBB/hari selama 6 bulan tidak menyebabkan perubahan hematologi secara signifikan (Pranee dkk., 2002).

Kurkuminoid rimpang temulawak meliputi kurkumin dan desmetoksikurkumin. Dari hasil uji klinik fase I, penggunaan kurkumin dengan dosis 3.600–8.000 mg/hari selama 4 bulan tidak menunjukkan toksisitas kecuali mual dan diare ringan. Aktivitasnya sebagai obat analgetik (dan anti inflamasi) telah banyak diteliti dan dikembangkan. Akan tetapi tingkat

bioavailabilitasnya dalam tubuh relatif sangat rendah (Hsu dan Cheng, 2007). Di sisi lain dalam temulawak juga terkandung minyak atsiri yang telah banyak diteliti aktivitasnya sebagai analgetik. Namun sejauh ini belum dilakukan penelitian mengenai efek analgetik kombinasi minyak atsiri rimpang temulawak dan kurkuminoidnya (sebagai komponen utama penyusun temulawak). Diharapkan penelitian ini bisa menjadi salah satu referensi baru dalam pemanfaatan kurkuminoid dan minyak atsiri rimpang temulawak sebagai bahan analgetik.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Alat yang digunakan untuk membuat simplisia adalah pisau, blender, dan oven. Alat yang digunakan untuk mengekstraksi adalah bejana gelas, pengaduk kayu, dan kain flanel. Alat yang digunakan untuk membuat ekstrak kental adalah penangas air, evaporator, dan pengaduk *stainless steel*. Alat yang digunakan untuk memisahkan komponen senyawa aktifnya adalah corong pisah, alat-alat gelas (Pyrex®), dan flakon. Alat yang digunakan untuk identifikasi kemurnian senyawa adalah lempeng KLT dengan silika gel 60 F₂₅₄ (Merck®), bejana pengembang, dan lampu UV. Alat untuk mendapatkan minyak atsiri adalah destilator air-uap.

Selain itu juga dipakai timbangan (Ohaus) kepekaan 0,1 g, neraca analitik (Sartorius) kepekaan 0,1 mg, spruit injeksi dengan jarum suntik dan kanul peroral 1 ml (Terumo), stopwatch digital, cermin, kotak pengamatan dari kaca (ukuran 22,5 x 22,5 x 23 cm), mortir dan stamper, serta alat-alat gelas lain yang biasa digunakan di laboratorium.

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang temulawak yang diperoleh dari daerah Kabupaten Boyolali (Desa Sambi) dengan pengambilan sampel di kebun (tanah merah-liat, tidak berpasir) pada bulan Mei 2009. Bahan uji yang digunakan adalah kurkuminoid hasil ekstraksi rimpang temulawak, minyak atsiri hasil destilasi uap dan air dari rimpang temulawak, dan indometasin (Sigma chemical CO., MO., USA). Semua senyawa uji disuspensikan dalam CMC-Na 0,5 % dalam akuades. Senyawa penginduksi nyeri yang digunakan adalah formalin 1% dalam salin. Bahan yang digunakan untuk pemisahan kurkuminoid adalah etil asetat dan heksan. Eluen untuk identifikasi senyawa adalah heksan:etil asetat (9:1)^{v/v}, dan kloroform:etanol:asam asetat glasial (94:5:1)^{v/v}. Pelarut yang dipakai untuk melarutkan isolat yaitu etanol 70%.

Jalannya penelitian

Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.

Persiapan bahan dan alat

Rimpang temulawak diambil pada bulan Mei 2009 antara pukul 07.00-9.00 WIB. Rimpang kemudian dicuci dan diiris dengan irisan melintang setebal ± 1 cm. Kurkuminoid diperoleh dari hasil ekstraksi serbuk rimpang temulawak menggunakan pelarut awal berupa etil-asetat. Sari etil asetat yang diperoleh diuapkan sehingga menjadi ekstrak kental kemudian ditambahkan heksan berkali-kali guna melarutkan resin dan minyak atsirinya (untuk dibuang).

Pada sampel minyak atsiri cara pengambilannya adalah dengan metode destilasi air-uap. Proses destilasi dilakukan hingga tidak ada lagi minyak yang tersari keluar dari simplisia. Selanjutnya baik rendemen ekstrak maupun minyak, dihitung beratnya. Ekstrak kurkuminoid disimpan dalam keadaan tertutup rapat tidak tembus cahaya dan minyak atsiri disimpan dalam flakon dengan penambahan Na_2SO_4 anhidrat.

Identifikasi Senyawa

Identifikasi secara kualitatif dilakukan untuk mengetahui apakah dalam ekstrak kurkuminoid masih terdapat minyak atsiri atau tidak. Metode yang digunakan adalah KLT dengan fase diam silika gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak heksan:etil asetat (9:1)^{v/v} serta kloroform:etanol:asam asetat glasial (94:5:1)^{v/v}.

Plat yang telah terelusi diperiksa di bawah lampu UV 366 nm dan 254 nm. Bercak yang positif mengandung kurkuminoid akan berfluoresensi berwarna kuning terang di bawah UV 366nm (Wagner dkk., 1989), sedangkan minyak atsiri akan teramat meredam pada UV 254nm serta bereaksi positif dengan pereaksi semprot anisaldehid asam sulfat, memberikan warna merah-ungu pada pengamatan visibel.

Uji analgetik pada nyeri persisten dengan metode *Formalin test*

Subjek uji

Penelitian ini menggunakan mencit jantan galur Swiss (30 ± 5 g), sehat, dan dewasa (umur 2 bulan), diperoleh dari Unit Pengadaan Hewan Percobaan (UPHP) UGM. Semua hewan uji dikelompokkan dan ditempatkan dalam kandang hewan penelitian Fakultas Farmasi UGM dan dijaga pada kondisi standar laboratorium pada temperatur $27 \pm 2^\circ\text{C}$, dengan siklus gelap-terang

12/12 jam. Semua hewan uji diberi makan pellet dan minum *ad libitum*.

Penelitian pendahuluan

Sebanyak 12 ekor mencit galur Swiss dibagi secara acak dan dikelompokkan menjadi 4 kelompok (3 ekor mencit tiap kelompok). Kelompok I dan II masing-masing diberi perlakuan sebagai kontrol negatif dan kontrol positif. Kemudian kelompok III dan IV masing-masing mendapat perlakuan kurkuminoid dan minyak atsiri temulawak guna menetapkan apakah dosis yang dipakai sudah berefek analgetik.

Semua hewan uji dipejani dengan 20 μL formalin (konsentrasi 1%) pada kaki kiri secara intraplantar. Adapun pemejanan senyawa atau obat dilakukan pada saat satu jam sebelum injeksi formalin. kelompok I diberi 0,5mL CMC-Na 0,5% peroral (p.o.), kelompok II diberi indometasin 4mg/kgBB *intraperitoneal* (Kurniawan, 2007), kelompok III dipejani kurkuminoid 48 mg/kgBB p.o. (Ahmed dkk., 2000) dan kelompok IV dipejani dengan minyak atsiri 24mg/kgBB p.o. Kadar minyak atsiri yang dipakai adalah $\frac{1}{2}$ kali kadar kurkuminoid. Dasarnya karena dari penelitian ini rendemen kurkuminoid yang diperoleh (0,93%) adalah 2 kali rendemen minyak atsirinya (0,45%). Pemejanan minyak atsiri yang dilakukan $\frac{1}{2}$ kali kadar kurkuminoid, supaya bisa mensimulasikan perbandingan kadar kurkuminoid dan minyak atsiri yang sebenarnya di dalam rimpang temulawak.

Penelitian utama

Penelitian ini dilakukan mengikuti metode Formalin Tes yang dilakukan oleh Xie dkk. (2005) dengan sedikit modifikasi. Sebelum diberi perlakuan mencit dipuaskan 12 jam dengan tetap diberi minum secukupnya. Dari hasil penelitian pendahuluan ternyata sudah menunjukkan efek yang diinginkan, maka penelitian dilanjutkan dengan menambah jumlah n total menjadi 5 ekor tiap kelompok. Jalannya penelitian ini sama dengan uji pendahuluan, hanya saja pada penelitian ini ditambahkan 2 kelompok lain, yaitu kelompok perlakuan campuran (kurkuminoid dengan minyak atsiri) dan kelompok indometasin dengan yang pemejanannya dilakukan peroral.

Teknis pengujian yang dilakukan di laboratorium (meliputi: parameter pengamatan mencit menjilat, waktu pengamatan, metode, alat, dan cara pengamatan) sama persis dengan yang dilakukan pada saat uji pendahuluan. Tiap-tiap kelompok disuntik 20,0 μL formalin 1% secara intraplantar, kemudian mencit dimasukkan ke dalam kotak kaca (ukuran 22,5x22,5x23cm) dengan sebuah cermin diletakkan didepan kotak kaca membentuk sudut 45° untuk memudahkan

pengamatan. Kemudian diamati respon total waktu menjilat (total *licking time*) pada menit ke 0-5 (fase I) dan menit ke 10-30 (fase II) (Rabelo dkk., 2003). Fase I adalah fase nyeri pada SSP, sedangkan fase II adalah fase nyeri pada perifer. Kontrol positif yang dipakai hanya indometasin (analgetik fase perifer) tanpa menggunakan morfin (analgetik fase SSP dan perifer). Akan tetapi data uji analgetik fase SSP yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan data morfin dari penelitian terdahulu.

Dalam penelitian ini pemejanan formalin dilakukan secara *intraplantar* pada kaki belakang sebelah kiri mencit, sehingga *licking area* yang diamati juga hanya pada bagian bawah lutut kaki kiri sebelah belakang mencit saja. *Licking time* dihitung % daya analgetiknya dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ daya analgetik persisten} = \frac{(tn - tp)}{tn} \times 100\%$$

keterangan:

tn = total waktu menjilat kontrol negatif

tp = total waktu menjilat perlakuan

Analisis data

Data persentase daya analgetik lalu dianalisis normalitas datanya dengan metode Shapirow-Wilk. Jika data terbukti terdistribusi normal maka dilakukan analisis statistik parametrik dengan ANAVA satu jalan, dengan taraf kepercayaan 95%. Jika data terbukti ada perbedaan yang bermakna, maka dilanjutkan uji Turkey. Jika data persen daya analgetik tak terdistribusi normal (pada uji Shapirow-Wilk), maka data diubah ke dalam bentuk transform log atau ln, guna membuat bentuk variabel baru (Anonim, 2007). Kemudian dilanjutkan dengan ANAVA satu arah. Tapi jika hasil yang diperoleh masih tetap belum terdistribusi normal, maka pengolahan data diganti menggunakan metode statistik non parametrik Kruskal-Wallis. Hasil persentase daya analgetik dari kelompok bahan uji dibandingkan dengan kontrol positif dan negatifnya. Namun karena tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kombinasi kurkuminoid dan minyak atsiri temulawak (sebagai analgetik), maka dari persentase daya analgetik kemudian dicari $X \pm SD$ tiap perlakuan. Diperoleh keluaran yaitu berupa pembahasan hubungan yang terjadi antara kurkuminoid dan minyak atsirinya, serta fase nyeri yang dihambat oleh tiap kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi tanaman

Rimpang temulawak yang digunakan selama penelitian ini diambil dari Desa Sambi, kabupaten Boyolali, Jawa Tengah. Determinasi dilakukan di Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Hasil determinasi menunjukkan bahwa bahan yang digunakan merupakan memang benar temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.).

Kurkuminoid

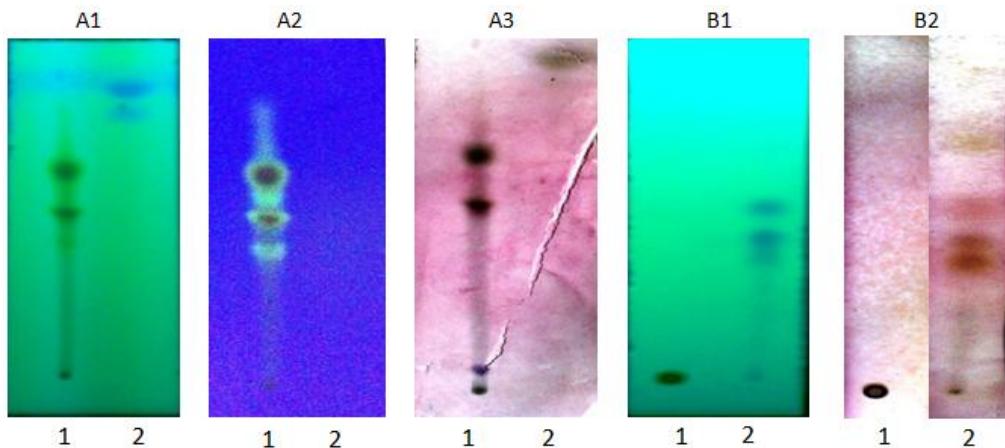
Kurkuminoid yang dipakai berasal dari rimpang tanaman temulawak. Sampel merupakan hasil ekstraksi serbuk rimpang temulawak menggunakan pelarut etil-asetat, dilanjutkan penguapan (hingga diperoleh ekstrak kental), kemudian dimurnikan dengan pelarut heksan berulang kali. Sampel yang digunakan berwarna kuning dan berbentuk serbuk halus.

Minyak atsiri

Pengambilan minyak atsiri dilakukan dengan cara destilasi air-uap. Alasan pemilihan destilasi air-uap yaitu selain cepat, alat sederhana dan praktis, juga senyawa-senyawa yang terkandung didalamnya tidak akan rusak oleh proses hidrolisis akibat bersinggungan langsung dengan air. Minyak atsiri merupakan metabolit atau campuran dari beberapa produk metabolit yang terdapat dalam sitoplasma dan biasanya berbentuk seperti tetesan kecil diantara sel. Destilasi dihentikan jika sudah tidak ada lagi minyak atsiri yang tersari keluar dari simplisia. Penyimpanan minyak atsiri dilakukan dalam flakon, ditutup aluminium foil, dan diberi serbuk Na_2SO_4 anhidrat untuk mencegah ketengikan. Rendemen minyak atsiri yang diperoleh dari rimpang basah temulawak dalam penelitian ini adalah 0,45% v/b.

Profil KLT kurkuminoid dan minyak atsiri

Dari pengamatan nampak 2 bercak berwarna kuning-coklat dari sampel kurkuminoid (no. 1). Di sisi lain, dari totolan minyak atsiri (no. 2) diketahui terdapat bercak meredam berwarna ungu, yang tidak terdapat pada sampel no.1. Pengamatan pada UV 366 (Gambar 1-A2) menunjukkan bahwa pada sampel kurkuminoid terdapat pemendaran bercak berwarna kuning. Pengamatan hasil elusi menggunakan fase gerak B yaitu heksan-etil asetat (9:1)^{v/v}, pada UV 254 (Gambar 1-B1), menunjukkan peredaman pada sampel minyak atsiri. Sementara pada kurkuminoid tidak ditemukan satupun bercak



Gambar 1. Foto Kromatografi Lapis Tipis sampel kurkuminoid dan minyak atsiri

Keterangan:

Fase diam silika gel 60 F₂₅₄, fase gerak A. kloroform-ethanol-asetat glasial (94:5:1); B. heksan-ethyl asetat (9:1); Deteksi A1. UV 254; B1. UV 254; A2. UV 366; B2. anisaldehid asam sulfat (visibel); A3. anisaldehid asam sulfat (visibel); Sampel 1. kurkuminoid hasil ekstraksi; 2. minyak atsiri temulawak.

dengan warna dan R_f yang sama dengan minyak atsiri. Begitu pula setelah disemprot anisaldehid (Gambar 1-B2), pada sampel kurkuminoid tetap tidak ditemukan bercak minyak atsiri. Ini berarti kurkuminoid yang digunakan sudah bebas minyak atsiri. Akibatnya efek analgetik yang dihasilkan nantinya, murni berasal dari masing-masing bahan uji.

Hasil elusi yang diperoleh dari Gambar 1-A2, pada UV 366nm nampak terdapat 3 buah bercak kuning yang berpendar, sedangkan kurkuminoid temulawak hanya tersusun atas kurkumin dan desmetoksikurkumin saja (tanpa ada bisdemetoksikurkumin). Wagner (1989) menyebutkan bahwa pada fase gerak kloroform-ethanol-asetat glasial (94:5:1)^{v/v}, pengamatan dibawah UV 366nm, kurkumin akan nampak pada bercak R_f~(0,6), sedangkan desmetoksikurkumin R_f~(0,5-0,55), dan bisdemetoksikurkumin pada R_f~(0,3). Artinya bisdemetoksikurkumin memiliki bercak pada jarak $\frac{2}{3}$ kali desmetoksikurkumin, sedangkan dari Gambar 1-A2 terlihat bahwa bercak ketiga (paling bawah) yang tampak berada dekat dengan bercak diatasnya.

Untuk memastikan bahwa bercak ketiga adalah bukan bisdemetoksikurkumin, maka pengamatan dilanjutkan secara *visibel*. Hasil pengamatan secara *visibel* menunjukkan bahwa totalan dari sampel kurkuminoid menunjukkan 2 buah bercak berwarna kuning. Oleh karena itu dapat dipastikan bahwa bercak ketiga yang tampak pada UV 366nm (Gambar 1-A2) bukan senyawa bisdemetoksikurkumin, melainkan

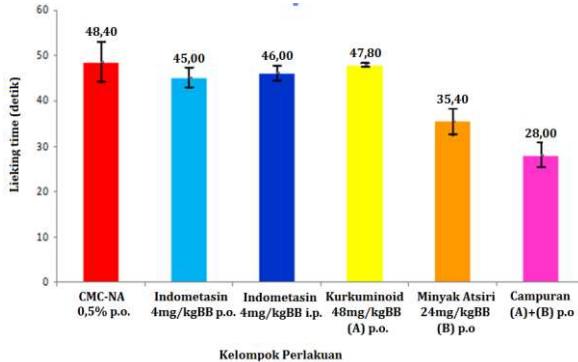
senyawa lain yang dimungkinkan merupakan derivat dari senyawa kurkumin.

Daya analgetik

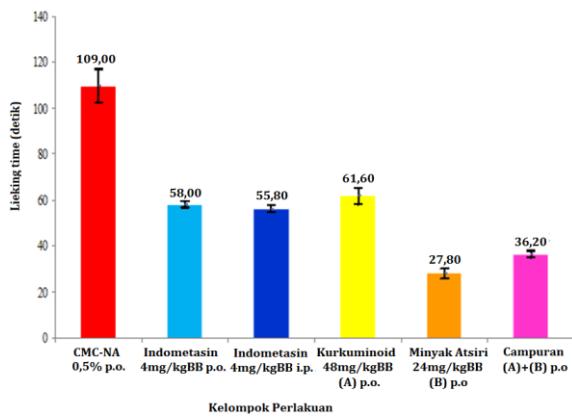
Metode uji analgetik dalam penelitian ini menggunakan metode tes formalin yang telah dimodifikasi. Penyebab terjadinya nyeri pada uji tes formalin adalah adanya substansi P dan bradikinin yang ikut bermanifestasi dalam merangsang nyeri fase pertama. Adapun histamin, serotonin, prostaglandin serta bradikinin terlibat bertanggungjawab terhadap terjadinya fase kedua. Hasil ini mengindikasikan respon yang diinduksi oleh formalin memiliki karakteristik khusus dan sangat berguna untuk pengujian nyeri, *nociception*, dan modulasinya (Shibata, 1989).

Fase I merupakan fase dimana rasa nyeri terjadi pada daerah SSP. *Licking time* adalah waktu (dalam detik) lamanya mencit menjilati kaki, sebagai indikasi terjadinya rasa nyeri. Semakin besar *licking time* yang terjadi, artinya semakin besar rasa nyeri yang dialami oleh mencit. Dari Gambar 2 terlihat bahwa *licking time* kelompok kontrol negatif (48,4±4,39 detik), indometasin i.p (45,0±2,22 detik), indometasin p.o. (46,0±1,58 detik) dan kurkuminoid (47,8±0,44 detik) memiliki harga yang hampir sama. Penurunan *licking time* pada mencit terjadi pada kelompok minyak atsiri (35,4±2,92 detik) dan campuran (28,0±2,73 detik), yaitu hingga hampir $\frac{1}{4}$ dan $\frac{1}{2}$ kalinya harga *licking time* kontrol negatif. Uji ANAVA satu arah tidak dilakukan terhadap data *licking time*, melainkan akan dilakukan setelah

data tersebut diolah ke bentuk persentase daya analgetik.



Gambar 2. *Licking time* (detik) fase I.

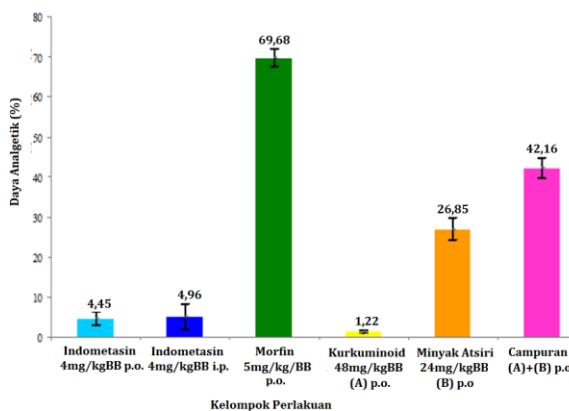


Gambar 3. *Licking time* (detik) fase II.

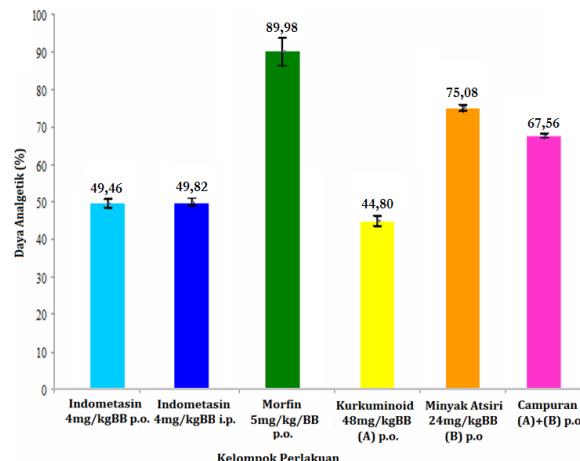
Berbeda dengan fase I (SSP), dari Gambar 3 nampak bahwa pada fase II (perifer) kelompok perlakuan minyak atsiri ($27,8 \pm 2,16$ detik) mampu menurunkan *licking time* hingga $\frac{3}{4}$ kali kontrol negatif (CMC-Na). Adapun untuk campuran ($36,2 \pm 1,48$ detik) mampu menurunkan $\frac{2}{3}$ kali harga *licking time* kontrol negatif, sedangkan indometasin i.p. ($58,0 \pm 1,58$ detik), indometasin p.o ($55,8 \pm 1,48$ detik) dan kurkuminoid ($61,6 \pm 3,60$ detik) mampu menurunkan $\frac{1}{2}$ kali *licking time* kontrol negatif. Setelah data *licking time* diperoleh, analisis perhitungan dilanjutkan dengan mencari persen daya analgetiknya.

Gambar 4 menunjukkan daya analgetik dan nampak bahwa pada fase I harga persen daya analgetik antara indometasin i.p maupun p.o jika dibanding dengan kurkuminoid hampir sama dan tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$) namun jika dibandingkan dengan kelompok campuran serta minyak atsiri, indometasin dan kurkuminoid menunjukkan persen analgetik yang lebih rendah secara signifikan ($p < 0,05$). Pada kelompok campuran, persen daya analgetik yang dihasilkan hampir 2 kali minyak atsiri ($p < 0,05$). Apabila

dibandingkan dengan perlakuan morfin 5 mg/kgBB, persen daya analgetik kelompok campuran ($42,16 \pm 2,53\%$) ternyata $\frac{2}{3}$ kali daya analgetik kelompok morfin ($69,68 \pm 2,17\%$), dan berbeda signifikan. Adapun peran morfin adalah sebagai kelompok pembanding (kontrol positif) pada fase I. Indometasin 4 mg/kgBB juga berperan sebagai kontrol positif, namun hanya sebagai kontrol positif fase II. Indometasin tidak dapat menghambat nyeri fase I (baik i.p maupun p.o), karena pada umumnya obat golongan AINS bekerja menghambat biosintesis prostaglandin dari asam arakidonat (pada fase II) dan tidak memiliki daya analgetik terhadap reseptor maupun mediator nyeri fase I.



Gambar 4 . Daya analgetik fase I



Gambar 5. Daya analgetik fase II

Dari data yang diperoleh maka secara statistika bisa disimpulkan bahwa efek analgetik fase I morfin > campuran > minyak atsiri > kurkuminoid dan indometasin (i.p dan p.o). Tidak dilakukan uji Anava satu arah terhadap morfin, karena data persen daya analgetik perlakuan morfin diperoleh dari data sekunder (penelitian terdahulu). Dalam penelitian ini tidak dilakukan

uji analgetik dengan menggunakan morfin karena keterbatasan waktu dan bahan.

Perseh daya analgetik fase II minyak atsiri 24 mg/kgBB jika dibandingkan dengan morfin bisa dikatakan setara dengan $7/8$ kali efek analgetik dari morfin (Gambar 5). Untuk kelompok campuran efek analgetik yang diperoleh berbeda signifikan ($p<0,05$) sekitar 1,5 kali lebih besar dari indometasin (baik i.p maupun p.o). Harga perseh daya analgetik dari indometasin yang dipejangkan secara *intraperitoneal* (i.p) ternyata tidak berbeda signifikan ($P>0,05$) dibanding peroral. Artinya bahwa *first pass* efek yang terjadi di usus dan di liver mencit berjalan secara cepat, sehingga tingkat ketersediaan hayatinya di dalam tubuh tinggi. Kurkuminoid juga memberikan efek pada fase II, namun efek analgetiknya berbeda signifikan lebih rendah ($p<0,05$) dibanding indometasin. Dari data tersebut bisa disimpulkan bahwa persentase daya analgetik fase II kelompok morfin > minyakatsiri >campuran>indometasin i.p dan p.o > kurkuminoid.

Pada metode Formalin tes nyeri diinduksi oleh adanya kontribusi (terbentuk kuat) histamin, serotonin, bradikinin, sitokin, amina simpatetik, LOX, dan COX (-1 dan -2), serta adanya *nitric oxide synthetase inducible*, pada salah satu atau kedua fase (Chichorro dkk, 2004).

Mekanisme penghambatan nyeri oleh indometasin dilakukan dengan cara menghambat biosintesis prostaglandin melalui penghambatan aktivitas enzim COX, inhibisi motilitas leukosit polimorfonuklear, dan dengan melepaskan fosforilasi oksidatif pada mitokondria kartilago (Daniel, 2006). Mekanisme aksi kerja tersebut erat kaitannya dengan mekanisme yang memperantara terjadinya nyeri pada daerah perifer, namun sampai saat ini tidak ditemukan bukti indometasin menghambat mediator-mediator nyeri pada daerah SSP. Hal yang sama terjadi pada hasil percobaan yaitu bahwa indometasin baik secara i.p. maupun p.o. berefek cukup kuat menghambat nyeri perifer ($49,46\pm1,08\%$) dan ($49,82\pm0,91\%$) namun berefek sangat lemah pada nyeri SSP.

Berbeda dengan kurkuminoid, kelompok uji perlakuan minyak atsiri p.o. 24mg/kgBB memiliki efek analgetik cukup tinggi ($26,85\pm2,73\%$) pada daerah SSP. Ada beberapa teori penyebab yang dapat dijelaskan. Studi yang dilakukan oleh Maia dkk. (2006) menyatakan bahwa kelompok senyawa golongan terpenoid dimungkinkan terlibat berefek sebagai anti *nociceptif* dan mampu menurunkan hipersensititas *visceral* pada model uji tes formalin. Penghambatan nyeri pada daerah SSP oleh minyak atsiri mungkin disebabkan karena senyawa terpenoid yang terkandung

didalamnya mampu memberikan aktivitas berikatan kuat dengan reseptor k-opioid yang mana berperan memberikan efek analgetik pada nyeri spinal.

Pada penelitian ini juga diperoleh hasil bahwa fase I kelompok campuran memiliki perseh daya analgetik yang berbeda signifikan ($p<0,05$), lebih tinggi dibanding kelompok kurkuminoid maupun minyak atsiri. Dari penjelasan di atas, maka dimungkinkan terjadinya sinergisme pada kelompok campuran karena:

Kombinasi minyak atsiri dengan kurkuminoid menyebabkan terjadinya peningkatan absorpsi campurannya di dalam tubuh. Ini disebabkan karena salah satu dari keduanya mampu berperan sebagai *enhancer*. Selain itu kemungkinan terjadi penghambatan reseptor nyeri yang memperantara timbulnya rangsang nyeri pada daerah *visceral* atau dapat juga terjadi peningkatan lipofilisitas akibat kombinasi.

Meski diperoleh beberapa kemungkinan namun masih tetap belum dapat diketahui secara pasti mekanisme (*enhancing*, penghambatan reseptor nyeri, atau peningkatan lipofilisitas) yang terjadi pada kombinasi minyak atsiri dengan kurkuminoid. Adapun fase I pada kelompok campuran ($42,14\pm5,6\%$) jika dibanding dengan morfin ($69,68\pm2,17\%$) diketahui bahwa daya analgetik kelompok campuran masih lebih kecil. Akan tetapi dengan adanya efek samping penggunaan morfin yang berbahaya dan perseh daya analgetik campuran sudah setara dengan $2/3$ kali morfin, maka bisa dikatakan bahwa campuran (kurkuminoid dan minyak atsiri rimpang temulawak) berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat analgetik fase I.

KESIMPULAN

Minyak atsiri mampu menghambat rangsang nyeri pada SSP dan perifer yaitu sebesar ($26,85\pm2,73\%$) dan ($75,08\pm0,86\%$), sedangkan kurkuminoid hanya mampu menghambat rangsang nyeri perifer yaitu sebesar ($44,80\pm1,46\%$) tanpa mampu melakukan penghambatan nyeri di daerah SSP. Kombinasi minyak atsiri rimpang temulawak dan kurkuminoidnya memiliki efek analgetik pada mencit. Adapun penghambatan nyerinya pada SSP dan perifer yaitu sebesar ($42,16\pm2,53\%$) dan ($67,56\pm0,59\%$). Fase nyeri yang dihambat oleh campuran (minyak atsiri dengan kurkuminoid) yaitu pada fase I (SSP) dan II (perifer). Pada minyak atsiri penghambatan nyeri juga terjadi pada SSP dan perifer. Untuk kelompok perlakuan kurkuminoid, diketahui hanya dapat menghambat rangsang nyeri pada perifer saja.

UCAPAN TERIMA KASIH

Seluruh jajaran dosen, staf tata usaha, serta pegawai di bagian Biologi Farmasi dan Kimia Farmasi Fakultas Farmasi UGM.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, S., Anuntyo, J., Malemud, C., J., dan Haqiqi, M., T., 2000, Biological Basis For the Use if Botanical in Osteoarthritis and Rheumatoid Arthritis, *A Review*, Dept. of Medicine, Cleveland, USA.
- Anonim, 2007, *SPSS 14: Quick Guide Edition 2*, Leeds Metropolitan University, United Kingdom.
- Chichorro J., G., Lorenzetti, B., B., Zampronio, A., R., 2004, Involvement of Bradykinin, Cytokines, Sympatethic Amines And Prostaglandins In Formalin-Induced Orofacial Noceception In Rats, *J. Pharm.*, **141**(7): 1175-84.
- Daniel, 2006, Terapi Arthritis : Alih Strategi Terapi OAINS ,Ulas Obat, *Maj. Farm.*, **5**(9).
- Dharmady, Triyanto, 2004, Manajemen Nyeri Dalam Suatu Tatanan Tim Medis Multidisiplin, *Maj. Ked. Damianus*, **3**(1): 1-13
- Dianita, K., 2007, Aktivitas Mukolitik Ekstrak Etanolik Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L) Pada Mukus Usus Sapi Secara In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Farmasi. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Hsu, C., H., dan Cheng, A., L., 2007, Clinical Studies With Curcumin: The molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease, **595**: 471-480, *Springer*, US.
- Kurniawan, H., 2007, Uji Efek Analgetik senyawa GVT-0 Dengan Metode Hot Plate dan Formalin Tes, *Skripsi*, Farmasi, Univ. Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Maia, J., L., Lima, R., David, J., P., David, J., M., Santos, F., A., dan Rao V., S., 2006, OLeanic Acid a Pentacyclic Triterpene Attenuate the Mustard Oil-Induced Colonic Nociception in Mice, *Biol. Pharm. Bul.*, **29** (1): 82-85.
- Purnomowati, 1997, http://www.indofarma.co.id/index.php?optin=com_content&task=view&id=21&Itemid=140, 20 Des 2009. Pranee C., Songphol C., Sadudee R., Anchalee C., Chada P., 2002, Chronic toxicity study of curcuminoids in rats, *Songklanakarin J. Sci. Tech.*, **24** (4): 633-647, Thailand.
- Shibata, M., Onkubo, T., Takashi, H., dan Inoki, R., 1989, Modified Formalin Test Characteristic Biphase Pain Response, *Pain*, **38**: 347-52.
- Wagner, H., Bladt, S., Rickl V., 1989, *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas*, Springer, US, 259-60.
- Xie, Y., F., Wang, J., Huo, F., Q., Tang, J., S., 2005, Validatin of a Simple Automated Movement Detection System for Formalin Test in Rats, *A.Pharm.*, **36**, 39-45