

91
FAR

LAPORAN PENELITIAN
DAYA ANTIPIRETIK DAN KEAMANAN EKSTRAK
ALSTONIA SCHOLARIS R. Br.

1982-1983

PUSAT PENELITIAN FARMASI
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
DEPARTEMEN KESEHATAN R.I.
J A K A R T A

LAPORAN PENELITIAN
DAYA ANTIPIRETIK DAN KEAMANAN EKSTRAK
ALSTONIA SCHOLARIS R. Br.

1982-1983

PUSAT PENELITIAN FARMASI
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
DEPARTEMEN KESEHATAN R.I.
J A K A R T A

PERSONALIA PENELITIAN

Susunan personalia penelitian Daya Antipiretik dan Keamanan Ekstrak Alstonia scholaris R.Br. sesuai Surat Keputusan Pemimpin Proyek Penelitian Farmasi/Kepala Pusat Penelitian Farmasi No.364/BPPK/SK/V/04/1982, tanggal 22 April 1982 adalah sebagai berikut :

| | |
|-----------------------|---|
| Ketua Pelaksana | : Dra. Nani Sukasediati |
| Peneliti Utama | : Drs. Bambang Wahjoedi |
| Peneliti | : Drs. Janahar Murad Drs. Sutjipto |
| Pembantu Peneliti | : Sri Muwarni Dady Suhaedi Sri Ariyani Ajirni BSc. Sa'roni BSc. |
| Pembantu Laboratorium | : Herman |
| Pembantu administrasi | : Ening Pudyastuti |
| Tenaga Ahli | : Dr.IT Budiarsó |

Sehubungan dengan tugas belajar atas nama Dra.Nani Sukasediati, Drs. Bambang Wahjoedi dan Ajirni BSc, maka susunan personalia di atas mengalami perubahan sesuai Surat Keputusan Pemimpin Proyek Penelitian Farmasi/Kepala Pusat Penelitian Farmasi No.992/BPPK/SK/V/12/1982, tanggal 8 Desember 1982, sebagai berikut :

- Dra.Nani Sukasediati diganti oleh Dra.Nurendah BP
- Drs.Bambang Wahjoedi diganti oleh Drs.Oswald T.Tampubolon
- Ajirni BSc.diganti oleh Herawati Gultom

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|-----------------------------|---------|
| Personalia Penelitian | ii |
| Daftar isi | iii |
| Daftar tabel | iv |
| Abstrak | v |
| I. Pendahuluan | 1 |
| II. Bahan dan cara | 3 |
| III. Hasil | 9 |
| IV. Diskusi | 12 |
| V. Kesimpulan | 12 |
| VI. Daftar Pustaka | 13 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|--|---------|
| Tabel 1. Rancangan percobaan daya racun subkronik | 7 |
| Tabel 2. Perbandingan KLT infus <u>Alstonia scholaris</u> terhadap ekstraknya dengan eluen A,B dan C | 9 |
| Tabel 3. Percobaan daya racun akut | 11 |

A B S T R A K

Rebusan (infus) kulit kayu Alstonia scholaris R.Br. (pule) digunakan oleh masyarakat dan sudah dibuktikan pada hewan percobaan sebagai obat anti demam. Untuk lebih memudahkan penggunaan, dirasa perlu mencari bentuk sediaan yang lebih praktis.

Pada penelitian ini dicari ekstrak yang paling mendekati infus, dibuktikan daya antipiretiknya, diperiksa toksisitasnya-akut maupun kronis, kemudian dicari bentuk sediaannya yang paling sesuai.

Dari 6 (enam) ekstraksi, ternyata ekstraksi menggunakan alkohol 50% paling mendekati infus, dan ekstrak tersebut termasuk kategori "Practically Non Toxic".

I. PENDAHULUAN

Alstonia scholaris R.Br. atau pule, tanaman obat tradisional, dikenal sebagai obat anti demam oleh masyarakat. Sebagai jamu, rebusan dari kulit Pule tercantum dalam daftar tanaman obat yang dianjurkan untuk diteliti mengenai khasiat dan keamanannya, berdasarkan hasil penelitian Pemanfaatan Obat Tradisional untuk Pelayanan Kesehatan untuk penyakit dengan resiko rendah dan mudah dikenal oleh masyarakat (1).

Penelitian pola tanaman tersebut sudah banyak dilakukan, baik dalam bidang kimia (2,3,4) ataupun penelitian farmakologi eksperimental pada hewan percobaan (5,6,7,8,10) dari sediaan infus 10%.

Penelitian farmakologi yang ada, dalam hal keamanan hanya toksisitas akut. Toksisitas kronik belum ada data. Penelitian mengenai khasiat sebagai anti radang, anti hipertensi (5,6,8) dan sebagai antipiretik (7).

Sedang penggunaan secara empirik oleh masyarakat lebih banyak sebagai obat turun panas/anti demam.

Penelitian di bidang kimia memfokuskan pada kandungan zat alkaloid. Total alkaloid sebanyak 0,13% (2), umumnya dari golongan indol (4).

Pada penelitian kandungan zat kimia dengan TLC, ternyata bahwa noda terbanyak didapatkan dari pelarut polar dibanding dengan pelarut organik.

Dari data di atas dapat ditarik kesimpulan bahwa :

- Penggunaan selama ini hanya berdasarkan empirik dengan dosis yang empirik pula.
- Sediaan infus pada hewan percobaan, memang sesuai dengan rebusan, seperti kebiasaan masyarakat. Akan tetapi rebusan/infus dirasa kurang praktis untuk penggunaan pada tingkat penelitian lebih lanjut yaitu observasi klinik.

- Data toksisitas subkronik sebagai obat tradisional yang sering dan banyak digunakan belum ada.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan sebagai berikut :

1. Penetapan kadar ekstrak untuk penetapan dosis.
2. Menetapkan LD₅₀ ekstrak.
3. Menetapkan daya racun subkronik.
4. Menetapkan daya antipiretik ekstrak secara oral.
5. Menetapkan bentuk sediaan dan dosis yang sesuai.

Penelitian yang sudah dikerjakan adalah percobaan ekstraksi kimia untuk penetapan cara ekstraksi dan penetapan daya racun akut.

Penelitian lain sebagian sedang dalam pengerjaan dan sebagian lagi belum dikerjakan.

II. BAHAN DAN CARA

BAHAN

1. Serbuk kulit batang Alstonia scholaris

Bahan diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu, berupa kulit batang Alstonia scholaris yang sudah kering.

Kulit batang dipanen setelah pohon cukup umur (\pm 5 tahun ke atas). Waktu panen pada pagi hari kira-kira jam 9.00-10.00 (matahari bersinar). Bagian kulit batang yang akan dikelupas harus mulai \pm 0,5 m di atas tanah. Bagian tersebut dibersihkan dari kotoran-kotoran, mungkin lumut atau kerak yang menempel. Kulit batang dikelupas sampai ke jaringan hanya dengan panjang 30 - 50 cm, lebar 10 cm, mengikuti arah tumbuh. Jarak antara kelupasan tersebut satu dengan lainnya \pm 10 - 20 cm. Kulit-kulit kayu yang telah terkumpul dibersihkan kembali dari kotoran-kotoran. Kemudian dipotong kecil-kecil, keringkan di bawah matahari langsung.

Pengeringan berlangsung \pm 4 hari sehingga mencapai berat tetap. Pada waktu mengeringkan, kulit kayu tersebut harus sering dibolak-balik.

Pembuatan serbuk :

Kulit kayu dikeringkan pada suhu tidak lebih dari 50°C , diserbuk dan diayak dengan ayakan Mesh 48.

2. Bahan kimia

Reagensia untuk ekstraksi dan untuk pemeriksaan kromatografi lapisan tipis.

3. Binatang percobaan

3.1. Mencit diperoleh dari Pusat Penelitian Biomedis.

Untuk pemeriksaan toksisitas akut digunakan mencit dengan jenis kelamin sejenis dengan berat antara 20 - 25 gram.

3.2. Tikus diperoleh dari Pusat Penelitian Gizi. Untuk percobaan toksisitas subkronik digunakan tikus albino dengan kelamin sejenis dan berat antara 125-150 gram.

Untuk percobaan daya antipiretik digunakan tikus albino dengan kelamin sejenis dan berat \pm 200 gram.

CARA PERCOBAAN

1. Percobaan kimia

1.1. Ekstraksi serbuk, dengan cara :

- a. Infus 10% : serbuk direbus dengan air pada suhu 90°C selama 30 menit. Disaring selagi panas. Filtrat diuapkan dengan rotavapor pada suhu 80°C . Sisanya dikeringkan di dalam oven pada suhu 40°C .
- b. Ekstraksi tanpa pemanasan : serbuk ditambah dengan pelarut etanol 50% sebanyak 6 x berat serbuk, dikocok selama 30 menit lalu disaring. Filtrat diuapkan dengan rotavapor, sisanya dikeringkan di dalam oven pada suhu 40°C .
- c. Ekstraksi seperti cara b, dengan pelarut etanol 60%.
- d. Ekstraksi seperti cara b, dengan pelarut etanol 70%.
- e. Ekstraksi seperti cara b, dengan pelarut etanol 80%.
- f. Ekstraksi total : serbuk ditambah dengan pelarut etanol 80% sebanyak 6 x berat serbuk, reflux selama 1 jam lalu disaring panas. Filtrat diuapkan dengan rotavapor, sisanya dikeringkan di dalam oven pada suhu 40°C .

1.2. Kromatografi lapisan tipis

Ekstrak hasil a,b,c,d,e dan f masing-masing dilarutkan dalam etanol 80%, lalu dilakukan kromatografi lapisan tipis.

Untuk pelaksanaan KLT, dicoba pada 3 macam eluen supaya dapat dipilih eluen yang terbaik pemisahan nya. Ketiga eluen tersebut masing-masing sebagai berikut :

- Eluen A : campuran kloroform-metanol-etil asetat dengan perbandingan 75:5:20.
- Eluen B : campuran kloroform-metanol dengan perbandingan 90:10.
- Eluen C : campuran kloroform-metanol dengan perbandingan 50:20.

Penampak noda menggunakan larutan Dragendorf modifikasi Thees & Kenther.

1.3. Analisa hasil percobaan kimia

Dari hasil kromatogram akan terlihat noda dari ekstrak b,c,d, e dan f yang paling mirip dengan noda dari infus (ekstrak a). Sehingga bisa ditentukan cara ekstraksi mana yang paling sesuai dengan infus.

Ekstraksi serbuk dilakukan dengan cara tersebut. Hasilnya dikeringkan pada suhu 40°C sampai menjadi ekstrak kental. Kemudian dihitung ekuivalensinya terhadap serbuk untuk penetapan dosis pada percobaan farmakologi.

2. Percobaan farmakologi

Percobaan farmakologi dilakukan dengan ekstrak serbuk yang diekstraksi dengan cara yang sudah terpilih pada

1.3.

2.1. Daya racun akut

Percobaan ini mengikuti metoda C.S.Weil (1952). Cara ini terdiri atas 2 tahap, yaitu :

Tahap 1

Tahap penjajagan:

Pedoman dosis . diambil dari dosis biasa digunakan untuk mencit dari sediaan 18 ekor mencit yang dibagi dalam 6 kelompok, diberikan bahan ekstrak 10-100 gram /10 gram berat badan dan satu kali pemberian.

Dosis bisa diturunkan atau dinaikkan supaya diperoleh kematian 100% dalam satu kelompok.

Tahap 2

25 ekor mencit yang dibagi dalam 5 kelompok. Dosis terkecil yang diberikan pada kelompok-kelompok tersebut adalah dosis dimana tidak ada kematian dan dosis terbesar adalah yang menyebabkan kematian 100%.

Observasi dilakukan setelah 24 jam, berapa mencit yang mati pada tiap kelompok. Jumlah mencit yang mati disesuaikan dengan tabel Weil dan dihitung berapa LD_{50} .

Bila pola kematian belum sesuai dengan tabel Weil, percobaan diulang dengan range dosis yang lebih sempit, sampai didapat pola kematian kelompok yang sesuai dengan tabel Weil.

2.2. Daya racun subkronik

Sejumlah tikus percobaan dibagi menjadi 12 kelompok @ 6 ekor (lihat tabel 1). Rancangan percobaan toksisitas subkronik kelompok I,II,III dan IV diberikan bahan selama 1 bulan; kelompok V,VI,VII dan VIII diberikan bahan selama 3 bulan; kelompok IX,X,XI,XII diberikan bahan selama 6 bulan.

Kelompok I, V dan IX diberikan dosis a; kelompok II, VI dan X diberikan bahan dengan dosis b; kelompok III, VII dan XI diberikan bahan dengan dosis c; dan kelompok IV, VIII dan XII sebagai kontrol diberikan air suling. Bahan diberikan dengan volume 1 ml tiap 100 gram berat badan tikus.

Dosis a adalah dosis terbesar yang tidak memberi efek farmakologi; dosis b adalah dosis terbesar yang memberikan efek farmakologi tanpa adanya efek toksik; dan dosis c adalah dosis terkecil yang memberikan efek toksik sampai merusak organ.

Setelah hari yang ditentukan maka hewan dibunuh dan diseksi serta diperiksa secara mikroskopik. Organ jantung, paru, hati, limpa usus, ginjal dan pankreas diperiksa secara histopatologik setelah diolah dan diwarnai dengan hematoksilin dan eosin.

Tabel 1. RANCANGAN PERCOBAAN DAYA RACUN SUBKRONIK

| Lama pemberian dalam bulan | Dosis | | | |
|-------------------------------|-------|----|-----|------------|
| | a | b | c | Air suling |
| 1 | I | II | III | IV |
| 3 | V | VI | VII | VIII |
| 6 | IX | X | XI | XII |

2.3. Percobaan antipiretik

Menggunakan "Fully Randomized Design".

Tikus dikelompokkan dalam 5 kelompok. Satu kelompok sebagai kontrol diberikan air dan kelompok yang kedua sebagai standard diberikan asetosal 30 gram.

Tiga kelompok lainnya sebagai kelompok percobaan, diberi ekstrak dengan dosis berbeda/bertingkat.

Dosis LD₅₀ menjadi pedoman dosis antipiretik,

-dosis I adalah $1/10 \times$ dosis II

-dosis II adalah $\frac{1}{2}$ dosis LD₅₀

-dosis III adalah $10 \times$ dosis II

Tikus didemamkan dengan pemberian vaksin chotypa.

Vaksin ini dapat menaikkan suhu badan mencit sampai 2°C dan dapat bertahan cukup lama.

3. Percobaan formulasi

Berdasarkan jumlah total alkaloid dan percobaan farmakologi pada hewan, didapatkan dosis yang kira-kira efektif pada manusia. Bentuk akhir ekstrak berupa cairan kental. Ekstrak kental ini akan dibuat kapsul atau pil.

Kapsul lebih menguntungkan dari pil karena :

- rasa dan bau tidak enak akan tertutup.
- tergantung dari kekentalan ekstrak, bisa dengan atau tanpa pengisi.
- teknik pengisian kapsul lebih sederhana dari pada pembuatan pil.

Oleh sebab itu, percobaan dilakukan untuk membuat sediaan dalam bentuk kapsul.

III. HASIL1. Percobaan kimiaTabel 2. PERBANDINGAN KLT INFUS ALSTONIA SCHOLARIS
TERHADAP EKSTRAKNYA DENGAN ELUEN A,B DAN C

| A Jenis ekstraksi | KLT | | | | KLT infus (a) | | | |
|-------------------------|-----------------------------------|---------------------------|----------------------|----|---------------|---------------------------|----------------------|----|
| | noda | | | | noda | | | |
| | jumlah | bentuk | warna | Rf | jumlah | bentuk | warna | Rf |
| b | | | | | | | | |
| c | | | | | | | | |
| d | tidak terelusi dan tidak terpisah | | | | | | | |
| e | | | | | | | | |
| f | | | | | | | | |
| B | | | | | | | | |
| b | | | | | | | | |
| c | | | | | | | | |
| d | tidak terelusi dan tidak terpisah | | | | | | | |
| e | | | | | | | | |
| f | | | | | | | | |
| C | | | | | | | | |
| b | 3 | berekor bertum- puk | 1 jingga 2 kuning | | | | | |
| c | 2 | „ | kuning | | | | | |
| d | 2 | „ | „ | *) | 3 | berekor bertum- puk | 1 jingga 2 kuning | |
| e | 2 | „ | „ | | | | | |
| f | 2 | „ | 1 coklat 1 kuning | | | | | |

*) tidak dapat dihitung, karena noda tersebut kemungkinan merupakan tumpukan noda-noda.

Keterangan tabel:

- a : infus 10% dalam air
- b : ekstrak dengan alkohol 50% tanpa pemanasan
- c.: ekstrak dengan alkohol 60% tanpa pemanasan
- d : ekstrak dengan alkohol 70% tanpa pemanasan
- e : ekstrak dengan alkohol 80% tanpa pemanasan
- f : ekstrak dengan alkohol 80% dengan pemanasan
- A : eluen A terdiri dari campuran kloroform-metanol-etil asetat = 75:5:20.
- B : eluen B terdiri dari campuran kloroform-metanol= 90:10
- C : Eluen C terdiri dari campuran kloroform-metanol= 50:20

Residu dari infus, ekstrak tanpa pemanasan dan ekstrak total masing-masing dilarutkan dalam alkohol 80%, kemudian dilakukan percobaan TLC. Eluen dicoba dengan 3 macam campuran, yaitu:

1. Campuran kloroform-metanol-etil asetat = 75:5:20 (eluen A)
2. Campuran kloroform-metanol = 90:10 (eluen B)
3. Campuran kloroform-metanol = 50:20 (eluen C)

Penampak noda menggunakan larutan Dragendorff.

Hasil percobaan TLC:

1. Eluen yang terbaik adalah eluen ke 3, yaitu campuran kloroform-metanol dengan perbandingan 50:20.
2. Dari hasil TLC dengan eluen ke 3 ini dapat dilihat bahwa noda yang paling mendekati gambaran noda yang diberikan oleh infus adalah noda dari ekstrak alkohol 50%.

Jadi dapat disimpulkan bahwa cara ekstraksi yang paling mendekati infus adalah ekstraksi dengan alkohol 50%.

Ekstraksi dan penguapan sedang dikerjakan, Ekstraksi dilakukan dalam dua tahap karena alat yang terbatas, demikian pula penguapan ekstrak.

Ekstraksi tahap kedua sudah selesai seluruhnya, tetapi penguapan sedang dikerjakan dan belum selesai.

2. Percobaan farmakologi

Tabel 3. PERCOBAAN DAYA RACUN AKUT (LD₅₀)

| <u>Alstonia</u> <u>scholaris</u> | LD ₅₀ (mg/kg b.b.) | | Penggolongan |
|-------------------------------------|-------------------------------|-------------|--------------|
| | mencit, i.p. | tikus, oral | |
| 1. infus | <u>30430</u> 26440-35020 | 2.130.100 | * PNT |
| 2. ekstrak alkohol 50% | <u>29020</u> 26017-32370 | 2.031.400 | * PNT |

* PNT = Practically Non Toxic.

Dari nilai LD₅₀ yang diperoleh, setelah diekstrapolasikan dan diperhitungkan untuk tikus oral, maka menurut batasan Cleason yaitu 15.000 mg/kg dan lebih adalah Practically Non Toxic, maka kedua bentuk ekstrak Alstonia scholaris tersebut adalah Practically Non Toxic.

- Percobaan antipiretik sedang dikerjakan.
- Percobaan toksisitas subkronik belum dikerjakan.

3. Percobaan formulasi

belum dikerjakan.

IV. DISKUSI

Pada percobaan kimia untuk mengetahui ekstrak mana yang paling sesuai dengan infus, ternyata ekstrak alkohol 50% menghasilkan gambaran noda yang paling mendekati gambaran noda infus.

Penampak noda yang digunakan ialah larutan Dragendorff, suatu larutan pereaksi spesifik untuk alkaloid. Sehingga noda yang tampak ini kemungkinan besar adalah senyawa golongan alkaloid.

Dengan cara ini hanya dapat dilihat alkaloid yang tertarik dalam infus dan etanol. Sedangkan diperkirakan masih ada kandungan senyawa kimia golongan lain yang tertarik dalam infus yang juga mempunyai khasiat farmakologis.

Sehingga untuk mengetahui dengan lebih teliti mungkin perlu diperiksa dengan eluen dan penampak noda yang lain. Tetapi masih tetap perlu diingat bahwa pemeriksaan kimia di sini hanya untuk menunjang pemeriksaan farmakologi, artinya hanya untuk mengetahui cara ekstraksi mana yang paling sesuai dengan infus.

V. KESIMPULAN

1. Secara keseluruhan belum dapat ditarik kesimpulan karena percobaan belum selesai.
2. Dari percobaan kimia diperoleh cara ekstraksi yang paling sesuai dengan infus adalah ekstraksi dengan etanol 50%.
3. Nilai LD_{50} untuk infus dan ekstrak alkohol 50% dari Alstonia scholaris kedua-duanya termasuk dalam kategori "Practically Non Toxic".

VI. DAFTAR PUSTAKA

1. Pemanfaatan Tanaman Obat, DepKes R.I., 1980.
2. Bonchuay W. Court W.E., Alkaloid of *Alstonia* from Thailand, *Planta Medica*, Vol. 29, 1976, p. 388-390.
3. Kosasih P. dkk., Pemeriksaan Kandungan Kimia Kayu *Alstonia* sp., Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat II, Bogor 24-25 Nopember 1977.
4. Agarwals, O.P., Chemistry of Organic Natural Products, Vol. I.
5. Wuryaningsih, Rahayu., Pengujian anti radang dan anti diuretik kulit kayu *Alstonia scholaris* R.Br. pada hewan percobaan, Skripsi Dep. Farmasi, F.MIPA ITB, 1978.
6. Mohamad Nasir Che Ali, Pemeriksaan anti hipertensi infus kulit kayu *Alstonia* dan jamu godok, Skripsi Dep. Farmasi ITB, 1979.
7. Salina, Pengujian efek farmakologi kulit kayu *Alstonia scholaris* R.Br. pada hewan percobaan, Skripsi Dep. Farmasi F.MIPA ITB, 1978.
8. Guswin A., dkk., Pemeriksaan beberapa efek farmakologi buah *Averrhoa carambola*, kulit kayu *Alstonia scholaris* R.Br. dan kayu *Strychnos legistrinae*, Badan Research ITB, 1980.

