

**UJI EFEK TONIKUM
EKSTRAK ETANOL BUAH MENGGKUDU (*Morinda citrifolia* L.)
TERHADAP MENCIT JANTAN GALUR SWISS**

Risha Fillah Fithria¹⁾, Kiki Damayanti¹⁾, Nurul Mustaufiah²⁾

¹⁾ Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim

²⁾ Program S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim

INTISARI

Buah mengkudu dipercaya dapat meningkatkan stamina. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan adanya efek tonikum ekstrak etanol buah mengkudu (EEBM) terhadap mencit jantan galur Swiss dan mengidentifikasi adanya senyawa golongan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak tersebut.

Ekstraksi buah mengkudu dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Uji kandungan senyawa golongan flavonoid dilakukan dengan pereaksi FeCl_3 dan kromatografi lapis tipis (KLT). Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan *pretest-posttest matched control group design*. Percobaan uji efek tonikum dilakukan menggunakan metode *natatory exhaustion*. Mencit sebanyak duapuluh lima ekor dibagi menjadi lima kelompok. Mencit kelompok I, II, dan III diberi EEBM (160, 400, dan 800) mg/kgBB. Mencit kelompok IV diberi kafein 100 mg/kgBB (kontrol positif) dan mencit kelompok V diberi CMC-Na 0,5% 25 mL/kgBB (kontrol negatif). Sediaan uji diberikan per oral selama 14 hari. Analisis data dilakukan dengan cara membandingkan waktu bertahan berenang mencit sebelum dan sesudah perlakuan menggunakan uji *Wilcoxon* dan uji t-berpasangan. Analisis data adanya perbedaan efek antar kelompok perlakuan menggunakan uji Kruskal-Wallis dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney dengan taraf kepercayaan 90%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa EEBM dosis 400 mg/kgBB ($p < 0,1$) dan 800 mg/kgBB ($p < 0,1$) terbukti mempunyai efek tonikum. Senyawa golongan flavonoid berhasil ditemukan dalam EEBM.

Kata kunci : ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), tonikum, *natatory exhaustion*, flavonoid

ABSTRACT

Noni fruit is believed can increase stamina. The purpose of this study was to prove the tonic effect of noni fruit ethanol extracts (NFEE) to the male Swiss mice and identify flavonoid compound contained in the extract.

Noni fruit extracted by the maceration method in ethanol 70%. Identification of flavonoid compound conducted with FeCl_3 reagents and thin layer chromatography (TLC). This research is experimentally with pretest-posttest matched control group design. The tonic effect assay conducted with natatory exhaustion method. Twenty-five mice divided into five groups. Mice in group I, II, and III treated with NFEE (160, 400, and 800) mg/kg BW. Mice in group IV treated with caffeine 100 mg/kg BW (positive control) and group V treated with CMC-Na 0.5% 25 ml/kg BW (negative control). The test preparation given for 14 days orally. Data of survival time swam mice before and after treatment analyzed statistically with Wilcoxon test and paired t-test. Data was analyzed for different effect intergroup treatment with Kruskal-Wallis and then with Mann-Whitney at 90% confidence level.

The result showed that NFEE (400 and 800) mg/kg BW have a tonic effect ($p < 0,1$). Flavonoid compounds have been found in NFEE.

Keywords: ethanol extract of noni fruit (*Morindacitrifolia* L.), tonic, *natatory exhaustion*, flavonoid

PENDAHULUAN

Tonikum adalah suatu obat yang dapat menambah tenaga atau energi pada tubuh. Efek tonikum digolongkan ke dalam golongan psikostimulansia. Senyawa psikostimulansia tersebut dapat menghilangkan rasa kelelahan. Salah satu senyawa psikostimulansia adalah kafein. Beberapa efek samping kafein yang cukup berbahaya diantaranya menyebabkan jantung berdebar dan tremor (Mutschler, 1991). Penghentian mengkonsumsi kafein juga dapat menimbulkan rasa gelisah, gugup, mudah tersinggung, tidak mampu bekerja efektif, mual, nyeri kepala, gemetar, sembelit dan kadang-kadang depresi (Joewana, 2003). Salah satu usaha yang digunakan untuk menghindari efek samping kafein adalah dengan melakukan penelitian senyawa baru yang berkhasiat sebagai tonikum.

Kebutuhan akan suplemen penambah stamina atau tonikum bisa didapatkan dari mengkonsumsi tanaman herbal. Pemanfaatan tanaman herbal untuk menambah tenaga mempunyai kelebihan tersendiri dibandingkan senyawa sintetik. Tanaman herbal relatif lebih aman dibandingkan senyawa sintetik (Sari, 2006). Tanaman herbal yang sudah dikembangkan menjadi bahan penambah stamina atau tonikum adalah pasak bumi dan gingseng. Tanaman mengkudu juga dapat digunakan sebagai tonikum. Bagian utama tanaman mengkudu yang secara empiris bermanfaat sebagai tonikum adalah bagian buah (Tony, 2006 dan Achmad, *et al.*, 2008). Buah mengkudu mengandung steroid, glikosida, fenol, tanin, terpenoid, alkaloid, resin, flavanoid, antraknon, saponin, gula, protein, lemak dan senyawa asam (Nagalingam, *et al.*, 2012).

Beberapa penelitian lain telah membuktikan adanya aktivitas tonikum dari ekstrak yang mengandung senyawa flavonoid yaitu penelitian Li *et al.* (2009). Penelitian tersebut menyatakan bahwa ekstrak etanol daun mulberry (*Morus alba* L.) mengandung senyawa flavonoid dan meningkatkan waktu bertahan berenang pada mencit. Penelitian Jin dan Wei (2011) juga menyimpulkan senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol gandum tartary (*Fogopyrum esculentum*) mempunyai aktivitas tonikum pada mencit. Buah

mengkudu diketahui mengandung senyawa golongan flavonoid, sehingga kemungkinan buah mengkudu juga mempunyai efek sebagai tonikum. Penelitian yang membuktikan buah mengkudu, baik dalam bentuk segar ataupun dalam bentuk ekstrak yang digunakan sebagai tonikum belum pernah dilakukan. Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukan penelitian uji efek tonikum ekstrak etanol buah mengkudu terhadap mencit jantan galur Swiss.

METODE PENELITIAN

Desain dan Variabel Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan desain *pretest-posttest matched control group*. Variabel bebas penelitian ini yaitu peringkat dosis ekstrak etanol buah mengkudu, variabel tergantug yaitu waktu bertahan berenang mencit sesudah perlakuan dalam satuan detik. Variabel yang dikendalikan meliputi berat badan, galur, umur, dan jenis kelamin mencit, suhu air dalam akuarium, kedalaman, serta ukuran akuarium.

Bahan Penelitian

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah mengkudu yang masih berwarna putih agak hijau, yang diambil dari jalan Delta Mas, Kecamatan Semarang Selatan. Bahan lainnya yang digunakan adalah etanol 70% teknis (Brataco), FeCl₃ (Smart-Lab), butanol (Merck KGaA), asam asetat (Merck KGaA), aquadest, kuersetin (Sigma Aldrich), amoniak (Merck KGaA), kafein (Merck KGaA), dan CMC-Na (Brataco).

Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan listrik (Henherr Scale), oven (Memmert), blender (Philips), ayakan no 40 mesh, bejana maserasi, *moisture balance* (Ohaus), *rotary evaporator* (Heidolph), pipet tetes, pipa kapiler, selulosa (Merck KGaA), penggaris, bejana KLT, lampu UV 366 nm, timbangan hewan uji, spuit oral, termometer, *stopwatch*, akuarium ukuran 50 cm × 30 cm × 20 cm, dan alat-alat gelas.

Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Mengkudu

Serbuk simplisia buah mengkudu diekstraksi dengan metode maserasi. Sebanyak 500 gram serbuk simplisia buah mengkudu dimasukkan ke dalam toples,

ditambah cairan penyari etanol 70% sebanyak 3.750 mL, toples ditutup, dan didiamkan selama lima hari terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk. Setelah lima hari campuran serbuk simplisia dan etanol 70% diserikai. Hasil serkaian disebut sebagai maserat I. Ampas ditambah etanol 70% sebanyak 1.250 mL kemudian toples ditutup dan diamkan selama dua hari, terlindung dari cahaya, sambil sesekali diaduk. Setelah dua hari, campuran ampas dan etanol 70% diserikai kembali. Hasil serkaian ini disebut sebagai maserat II. Maserat I dan II dicampur, lalu diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 55°C sampai diperoleh ekstrak kental.

Uji Pendahuluan Senyawa Flavonoid

Uji kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol buah mengkudu dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak etanol buah mengkudu sebanyak 0,1 gram dalam 10 mL etanol. Larutan dibagi ke dalam dua tabung reaksi. Tabung pertama digunakan sebagai tabung kontrol dan tabung ke dua ditambahkan FeCl₃ sebanyak empat tetes. Warna yang terbentuk setelah penambahan FeCl₃ pada tabung ke dua dibandingkan dengan tabung kontrol (Harborne, 1987).

Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis

Fase gerak untuk memisahkan flavonoid adalah campuran butanol, asam asetat dan aquadest dengan perbandingan 7:1:2. Campuran fase gerak dimasukkan ke dalam bejana dan dilakukan pengocokan, kemudian dilakukan penjuhan bejana. Penjuhan dilakukan dengan memasukkan kertas saring dalam bejana. Keadaan jenuh tercapai apabila kertas saring sudah terbasahi fase gerak (Gandjar dan Rohman, 2007).

Ekstrak etanol buah mengkudu dan kuersetin dilarutkan dalam etanol secukupnya. Fase diam diberi tanda untuk tempat penotolan dan batas elusi. Jarak elusi yang ditetapkan adalah 8 cm. Fase diam untuk memisahkan flavonoid adalah lempeng selulosa. Larutan ekstrak etanol buah mengkudu dan kuersetin ditotolkan pada lempeng selulosa. Selanjutnya, fase diam dimasukkan dalam bejana hingga fase gerak mencapai batas elusi. Bila fase gerak sudah mencapai batas elusi, fase diam

diambil, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Lempeng selulosa diamati di bawah sinar UV 366 nm. Selanjutnya, lempeng selulosa diuapi dengan uap amoniak. Lempeng selulosa diamati kembali secara visibel dan di bawah sinar UV 366 nm. Pengamatan pada lempeng selulosa meliputi warna, jumlah bercak yang terpisah, dan jarak antara bercak dan tempat penotolan.

Uji Efek Tonikum Ekstrak Etanol Buah Mengkudu

Uji efek tonikum dilakukan menggunakan uji renang kemudian dilihat waktu pada ketahanan berenang mencit. Metode uji renang yang digunakan adalah *natatory exhaustion* (Turner, 1965). Sebanyak dua puluh lima ekor mencit diadaptasi lingkungan di laboratorium selama dua minggu. Mencit dibagi menjadi lima kelompok perlakuan. Setelah diadaptasi mencit dilatih berenang dalam aquarium dengan suhu air dipertahankan pada 30 ± 1°C. Latihan berenang dilakukan tiga kali seminggu selama satu minggu. Pengujian ketahanan berenang mencit sebelum perlakuan dilakukan sehari setelah latihan berenang terakhir. Waktu bertahan berenang (detik) dihitung semenjak mencit dimasukkan dalam aquarium hingga mencit menunjukkan kelelahan. Tenggelamnya kepala mencit selama 4-5 detik merupakan penanda kelelahan (Turner, 1965).

Mencit kelompok I, II dan III diberi ekstrak etanol buah mengkudu dosis (160, 400 dan 800) mg/kg BB. Dasar penggunaan dosis tersebut adalah penelitian yang dilakukan oleh Cao *et al.* (2009). Mencit kelompok IV diberi kafein dosis 100 mg/kg BB sebagai sediaan uji kelompok kontrol positif. Dasar penggunaan dosis kafein adalah penelitian yang dilakukan oleh Wahyuni dan Kusumawati (2008). Mencit kelompok V diberi larutan CMC-Na 0,5% 25 mL/kgBB sebagai sediaan uji kelompok kontrol negatif. Seluruh perlakuan diberikan secara per oral selama 14 hari. Sehari setelah perlakuan terakhir dilakukan pengujian waktu bertahan berenang mencit. Waktu bertahan berenang mencit dicatat (Hu *et al.*, 2010). Data waktu bertahan berenang mencit sebelum dan sesudah perlakuan dianalisis.

Analisis Hasil

a. Uji Pendahuluan Senyawa Flavonoid

Pengamatan uji pendahuluan dilakukan dengan mengamati perubahan yang terjadi setelah ekstrak etanol buah mengkudu ditambah FeCl₃. Ekstrak etanol buah mengkudu dinyatakan positif mengandung flavonoid jika dengan penambahan FeCl₃ menyebabkan peningkatan intensitas warna (Harborne, 1987). Peningkatan intensitas warna diketahui dengan cara membandingkan warna larutan ekstrak etanol buah mengkudu yang ditambah etanol 70% dengan larutan ekstrak etanol buah mengkudu yang ditambah etanol 70% dan FeCl₃.

b. Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis

Hasil identifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak etanol buah mengkudu dibandingkan dengan kuersetin. Apabila bercak ekstrak etanol buah mengkudu yang terpisah diuapi dengan amoniak dan dilihat secara visibel berwarna kuning menyala atau coklat maka ekstrak etanol buah mengkudu dinyatakan positif mengandung senyawa flavonoid (Harborne, 1987). Bercak ekstrak etanol buah mengkudu dinyatakan positif mengandung flavonoid apabila dilihat di bawah sinar UV 366 nm bercak berfluoresensi warna kuning, hijau, dan biru muda (Wagner dan Bladt, 1995). Nilai R_f bercak dan kuersetin dihitung dengan cara membagi jarak antara tempat penotolan sampai bercak dibagi jarak elusi.

c. Uji Efek Tonikum Ekstrak Etanol Buah Mengkudu

Data uji efek tonikum adalah waktu (detik) bertahan berenang mencit sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji selama 14 hari. Data tersebut diuji normalitas distribusinya dengan metode Shapiro-Wilk. Hasil uji normalitas distribusi menghasilkan nilai signifikansi lebih dari 0,1 ($p > 0,1$). Selanjutnya, analisis data yang digunakan untuk melihat perbedaan waktu bertahan berenang mencit sebelum dan sesudah perlakuan adalah dengan uji t-berpasangan (statistik parametrik) pada taraf kepercayaan 90%. Sebaliknya, jika hasil uji normalitas menghasilkan nilai signifikansi kurang dari 0,1 ($p < 0,1$), maka analisis data

yang digunakan adalah uji Wilcoxon (statistik non parametrik) pada taraf kepercayaan 90%. Data waktu bertahan berenang mencit sebelum dan sesudah pemberian CMC-Na 0,5%, kafein dan ekstrak etanol buah mengkudu (160 dan 400 mg/kgBB) dianalisis menggunakan uji t-berpasangan, sedangkan data waktu bertahan berenang mencit sebelum dan sesudah pemberian ekstrak etanol buah mengkudu dosis 800 mg/kgBB dianalisis menggunakan uji Wilcoxon. Adanya perbedaan yang bermakna waktu bertahan berenang mencit sebelum dan sesudah perlakuan ditentukan dengan nilai signifikansi kurang dari 0,1 ($p < 0,1$). Ekstrak etanol buah mengkudu dinyatakan mempunyai efek tonikum apabila ada perbedaan yang bermakna waktu bertahan berenang mencit sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji.

Data peningkatan waktu bertahan berenang mencit sebelum dan sesudah perlakuan dianalisis untuk mengetahui adanya perbedaan efek tonikum antar tiap kelompok perlakuan kafein 100 mg/kgBB dan ekstrak etanol buah mengkudu dosis (400 dan 800) mg/kgBB. Hasil uji normalitas distribusi data menunjukkan bahwa data terdistribusi normal ($p > 0,1$) dan memiliki varian yang tidak homogen ($p < 0,1$). Selanjutnya data peningkatan waktu bertahan berenang mencit dianalisa menggunakan statistik non parametrik yaitu menggunakan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney pada taraf kepercayaan 90%. Indikator adanya perbedaan efek peningkatan waktu berenang antar kelompok perlakuan ditentukan oleh nilai signifikansi kurang dari 0,1 ($p < 0,1$).

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Kandungan Senyawa Flavonoid

a. Uji Pendahuluan Senyawa Flavonoid

Uji ini dilakukan sebagai *screening test* yaitu pengujian awal sebelum dilakukan uji KLT. Buah mengkudu mengandung senyawa golongan alkaloid dan flavonoid (Nagalingam *et al.*, 2012). Uji pendahuluan dilakukan terhadap golongan senyawa alkaloid dan flavonoid. Uji pendahuluan terhadap senyawa golongan alkaloid hasilnya negatif. Hasil negatif tersebut

kemungkinan karena perbedaan tempat tumbuh tanaman mengkudu seperti cuaca, ketinggian, dan keadaan tanah yang berbeda, sehingga menyebabkan kandungan senyawa aktif dalam buah mengkudu yang sama akan menghasilkan senyawa aktif yang berbeda. Perbedaan tersebut kemungkinan besar menyebabkan ekstrak etanol buah mengkudu mengandung alkaloid dalam jumlah yang sedikit, sehingga tidak terdeteksi melalui uji pendahuluan. Uji pendahuluan pada

senyawa golongan flavonoid hasilnya positif, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah mengkudu mengandung senyawa flavonoid. Hasil uji pendahuluan senyawa flavonoid dapat dilihat pada gambar 1.



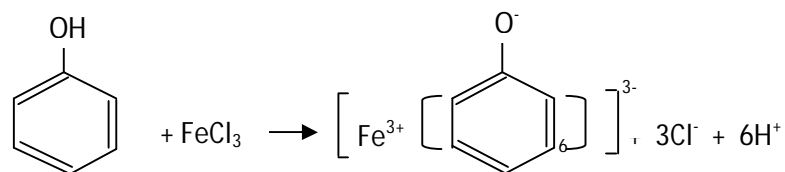
Keterangan :

- a. Ekstrak etanol buah mengkudu + etanol
- b. Ekstrak etanol buah mengkudu + etanol + FeCl₃

Gambar 1. Uji pendahuluan senyawa flavonoid ekstrak etanol buah mengkudu

Hasil uji pendahuluan membuktikan ekstrak etanol buah mengkudu mengandung senyawa flavonoid dengan terbentuknya warna yang lebih intens dari warna larutan ekstrak semula. Ekstrak etanol buah mengkudu mengalami perubahan warna dari kuning menjadi kuning pekat akibat penambahan FeCl₃ (gambar 1).

Perubahan warna yang terjadi disebabkan adanya gugus hidroksi pada flavonoid (fenol) yang bisa berikatan dengan Fe³⁺ dari pereaksi FeCl₃. Flavonoid adalah termasuk senyawa fenol (Sastrohamidjojo, 1996). Reaksi antara gugus fenol dengan FeCl₃ terdapat dalam persamaan reaksi pada gambar 2 (Arum, 2012).



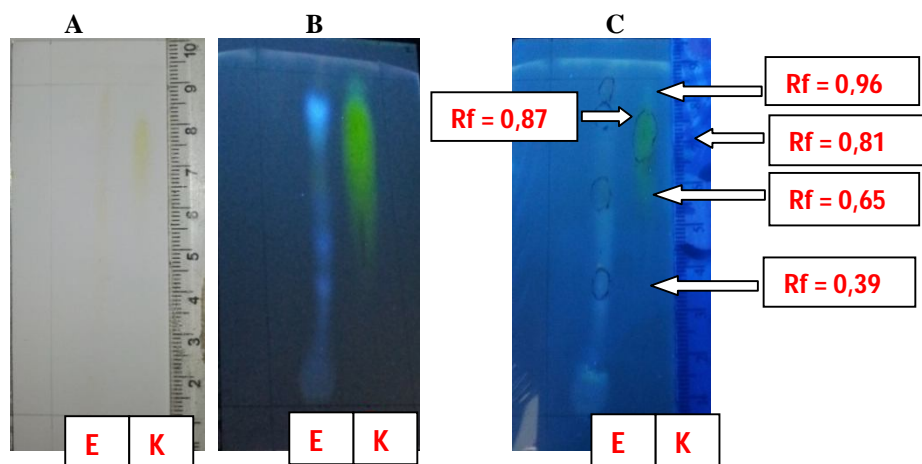
Gambar 2. Persamaan reaksi antara gugus fenol dengan FeCl₃

b. Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis

Setelah uji kandungan kimia dilakukan kemudian dilanjutkan dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Analisis KLT hanya dilakukan terhadap golongan

flavonoid. Fase gerak yang digunakan untuk identifikasi harus tepat agar pemisahannya berjalan dengan baik. Setelah mencoba beberapa fase gerak dengan berbagai perbandingan, diperoleh hasil bahwa kombinasi butanol-asam asetat-air (7:1:2)

memberikan hasil pemisahan yang cukup memadai. Perbandingan yang digunakan adalah senyawa kuersetin yang merupakan glikosida flavonoid. Hasil pengamatan dilakukan di bawah sinar UV 366 nm dan secara visibel. Hasil kromatografi lapis tipis senyawa flavonoid dapat dilihat pada gambar 2.



Keterangan :

- A. Pengamatan secara visibel sesudah diuapi amoniak
- B. Pengamatan dibawah sinar UV 366 nm sebelum diuapi amoniak
- C. Pengamatan dibawah sinar UV 366 nm setelah diuapi amoniak
- Fase diam : Selulosa
- Fase gerak : Butanol : asam asetat : air (7:1:2)
- Penampak bercak : Uap amoniak
- K : Kuersetin
- E : Ekstrak etanol buah mengkudu

Gambar 2. Hasil Identifikasi Senyawa Flavonoid

Hasil uji kromatografi lapis tipis senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol buah mengkudu setelah dielusikan menghasilkan empat bercak, sehingga kemungkinan ekstrak etanol buah mengkudu mengandung empat jenis flavonoid. Kuersetin termasuk dalam flavonoid golongan flavonol. Umumnya flavonol secara visibel akan berwarna kuning menyala atau coklat kekuningan ketika diuapi dengan pereaksi amoniak (Harborne, 1987). Secara visibel bercak ekstrak etanol buah mengkudu dan kuersetin sebelum diuapi amoniak berwarna putih kekuningan dan sesudah diuapi amoniak berwarna kuning cerah (gambar 9.A). Warna bercak kuning cerah yang terbentuk setelah diuapi

amoniak terjadi karena adanya interaksi antara uap amoniak dengan gugus hidroksil pada flavonoid (Harborne, 1987).

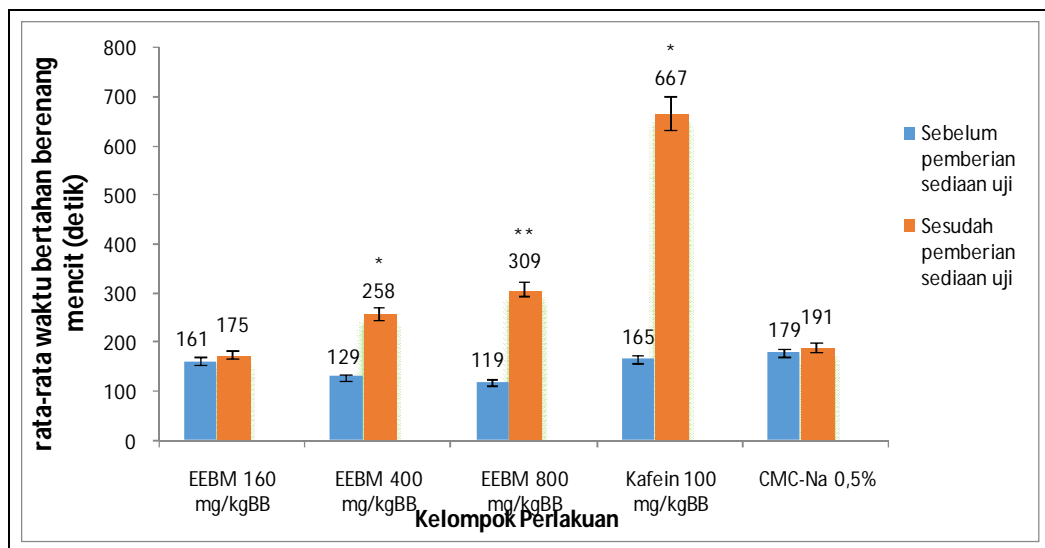
Menurut Wagner dan Bladt (1995) flavonoid akan berfluoresensi dengan menampilkan warna kuning, hijau dan biru muda bila dilihat di bawah sinar UV 366 nm. Pengamatan di bawah sinar UV 366 nm didapatkan bercak ekstrak etanol buah mengkudu terlihat berfluoresensi biru muda sebelum dan sesudah diuapi amoniak seperti terlihat pada gambar 2.B dan 2.C. Bercak kuersetin terlihat berfluoresensi hijau di bawah sinar UV 366 nm sebelum dan sesudah diuapi amoniak (gambar 2.B dan 2.C). Berdasarkan hasil pengamatan warna bercak ekstrak etanol buah mengkudu

sebelum dan sesudah diuapi amoniak secara visibel dan di bawah sinar UV 366 nm dapat dinyatakan bahwa ekstrak etanol buah mengkudu mengandung senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol buah mengkudu diduga merupakan golongan isoflavon karena warna bercaknya biru muda di bawah sinar UV 366 sesudah diuapi amoniak (Markham, 1988).

Polaritas flavonoid dalam ekstrak etanol buah mengkudu dapat diketahui dengan cara membandingkan Rf ekstrak etanol buah mengkudu dan Rf kuersetin. Rf kuersetin sebesar 0,81. Kromatogram ekstrak etanol buah mengkudu menghasilkan empat bercak dengan Rf berturut-turut sebesar 0,39; 0,65; 0,87; 0,96. Nilai Rf dari empat bercak tersebut berbeda dengan kuersetin, sehingga kemungkinan flavonoid dalam ekstrak etanol buah mengkudu bukan kuersetin. Dua bercak flavonoid pada ekstrak etanol buah mengkudu dengan Rf 0,39 dan 0,65 lebih polar dari pada kuersetin. Dua bercak flavonoid lainnya pada ekstrak etanol buah mengkudu dengan Rf 0,87 dan 0,96 lebih non polar dibandingkan kuersetin.

Uji Efek Tonikum Ekstrak Etanol Buah Mengkudu

Metode uji efek tonikum dengan *natatory exhaustion* memiliki beberapa keunggulan jika dibandingkan dengan metode lainnya yaitu dapat mengetahui efek stimulan sebagai peningkat aktivitas, efek stimulan dapat dilihat secara spontan dari peningkatan kapasitas kerja, waktu yang digunakan untuk pengamatan relatif singkat, dan rangkaian alat yang digunakan cukup sederhana (Sambodo, 2009). Data waktu bertahan berenang mencit dihitung semenjak mencit dimasukkan dalam aquarium hingga mencit menunjukkan kelelahan. Tenggelamnya kepala mencit selama 4-5 detik merupakan penanda kelelahan. Meningkatnya waktu bertahan hewan uji sesudah diberi sediaan uji menggambarkan penambahan daya tahan atau sebagai munculnya efek tonik. Perbandingan rata-rata waktu bertahan berenang mencit pada masing-masing kelompok perlakuan sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji selama 14 hari dapat dilihat pada gambar 3.



Keterangan :

EEBM : Ekstrak etanol buah mengkudu

*Hasil uji t-berpasangan menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna waktu bertahan berenang mencit sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji ($p < 0,1$)

**Hasil uji Wilcoxon menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna waktu bertahan berenang mencit sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji ($p < 0,1$)

Gambar 3. Perbandingan rata-rata waktu bertahan berenang mencit sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji

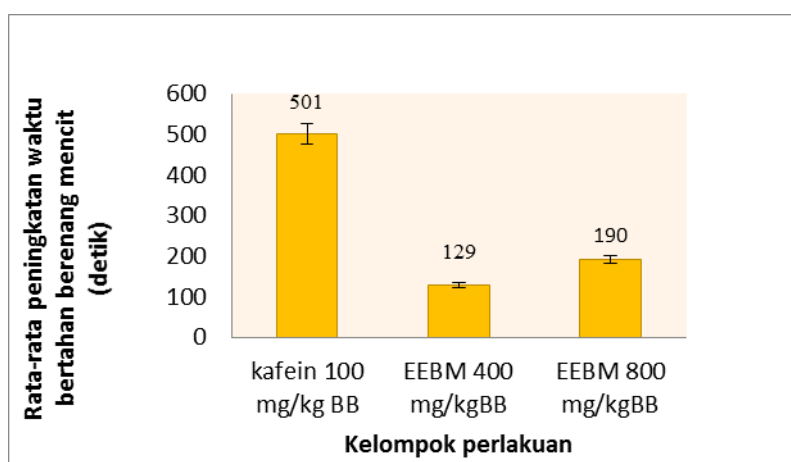
Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol negatif (CMC-Na 0,5%) mengalami peningkatan waktu bertahan berenang mencit sesudah perlakuan. Pengujian secara statistik dengan uji t-berpasangan menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna ($p>0,1$) waktu bertahan berenang mencit pada kelompok kontrol negatif sebelum dan sesudah perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa CMC-Na 0,5% sebagai zat pembawa ekstrak etanol buah mengkudu tidak mempunyai efek tonikum.

Kafein digunakan sebagai kontrol positif karena kafein merupakan senyawa yang memberikan efek psikotonik kuat yang dapat menghilangkan gejala kelelahan (Mutschler, 1991). Penelitian yang dilakukan oleh Davis, *et al.*, (2003) menyatakan bahwa kafein dapat menunda kelelahan, sehingga kafein sering digunakan sebagai tonikum. Hasil penelitian pada kelompok kontrol positif (kafein 100 mg/kgBB) menunjukkan bahwa sesudah pemberian kafein terjadi peningkatan waktu bertahan berenang mencit yang sangat tinggi. Pengujian secara statistik dengan uji t-berpasangan menunjukkan ada perbedaan yang bermakna ($p<0,1$) antara waktu bertahan berenang mencit sebelum dan sesudah pemberian kafein, yang artinya kafein mempunyai efek tonikum.

Kelompok perlakuan ekstrak etanol buah mengkudu dosis (160, 400, dan 800) mg/kgBB mengalami peningkatan waktu

bertahan berenang mencit setelah pemberian ekstrak etanol buah mengkudu. Setelah diuji menggunakan uji t-berpasangan, waktu bertahan berenang mencit kelompok perlakuan ekstrak etanol buah mengkudu dosis 160 mg/kgBB tidak berbeda bermakna dengan sebelum perlakuan ($p>0,1$). Hal tersebut dapat terjadi karena kadar flavonoid dalam ekstrak etanol buah mengkudu 160 mg/kgBB masih sedikit, sehingga belum mampu memberikan aktivitas tonikum. Hasil uji statistik dengan uji t-berpasangan dan uji Wilcoxon menunjukkan bahwa waktu bertahan berenang mencit kelompok perlakuan ekstrak etanol buah mengkudu dosis 400 dan 800 mg/kgBB berbeda bermakna dengan sebelum perlakuan ($p<0,1$). Ekstrak etanol buah mengkudu dosis 400 dan 800 mg/kgBB mempunyai efek tonikum pada mencit. Seiring bertambahnya dosis, diduga kadar kandungan flavonoid dalam ekstrak etanol buah mengkudu juga semakin banyak sehingga aktivitas tonikum yang dihasilkan semakin besar.

Data peningkatan waktu bertahan berenang mencit sebelum dan sesudah perlakuan kafein dosis 100 mg/kgBB (kontrol positif), ekstrak etanol daun buah mengkudu dosis (400 dan 800) mg/kgBB dibandingkan untuk mengetahui adanya perbedaan efek tonikum antar kelompok perlakuan. Hasil rata-rata peningkatan waktu bertahan berenang mencit dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Rata-rata peningkatan waktu bertahan berenang mencit sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji

Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan peningkatan waktu bertahan berenang mencit yang mendapat perlakuan kafein dosis 100 mg/kgBB dan ekstrak etanol buah mengkudu dosis (400 dan 800) mg/kgBB ($p < 0,1$).

Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa kafein dosis 100 mg/kgBB mempunyai efek tonikum yang lebih besar dari pada ekstrak etanol buah mengkudu dosis (400 dan 800) mg/kgBB. Hal ini disebabkan angka peningkatan waktu bertahan berenang mencit perlakuan kafein 100 mg/kgBB lebih tinggi dan berbeda secara signifikan dari pada perlakuan ekstrak etanol buah mengkudu dosis (400 dan 800) mg/kgBB (gambar 4 dan $p < 0,1$). Peningkatan waktu bertahan berenang mencit yang diberi perlakuan antara ekstrak etanol buah mengkudu dosis 400 dan 800 mg/kgBB tidak berbeda secara signifikan ($p > 0,1$). Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah mengkudu dosis (400 dan 800) mg/kgBB mempunyai kemampuan yang sama dalam meningkatkan waktu bertahan berenang mencit. Peningkatan dosis ekstrak etanol buah mengkudu dari 400 sampai 800 mg/kgBB diduga tidak dapat meningkatkan kandungan bahan aktif yang signifikan, sehingga tidak mampu meningkatkan aktifitas tonikum pada mencit jantan galur *Swiss*.

Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol buah mengkudu diduga berperan memberikan efek tonikum. Senyawa flavonoid tersebut mempunyai efek tonikum dengan mekanisme mengantagonis reseptor adenosin A_1 (Alexander, 2006). Kafein juga mempunyai mekanisme yang sama dengan senyawa flavonoid sebagai tonikum yaitu mengantagonis reseptor adenosin A_1 (Davis *et al*, 2003).

Penelitian yang mendukung adanya aktivitas tonikum dari ekstrak yang mengandung senyawa flavonoid yaitu penelitian Li *et al*. (2009). Penelitian tersebut menyatakan bahwa ekstrak etanol daun mulberry (*Morus alba* L.) mengandung senyawa flavonoid dan meningkatkan waktu bertahan berenang pada mencit. Penelitian aktivitas tonikum ekstrak etanol daun mulberry juga melakukan penetapan kadar asam laktat, *Blood Urea Nitrogen* (BUN),

dan glikogen dalam darah mencit yang merupakan penanda kelelahan. Ekstrak etanol daun mulberry diketahui menurunkan asam laktat, menurunkan BUN dan meningkatkan glikogen hepatic. Penelitian lanjutan efek tonikum ekstrak etanol buah mengkudu yang perlu dilakukan adalah pengukuran kadar asam laktat, BUN dan glikogen dalam darah hewan uji. Pengukuran parameter tersebut diperlukan untuk membuktikan aktivitas tonikum terhadap proses biokimia di dalam tubuh. Hal ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol buah mengkudu dalam mempengaruhi beberapa parameter penanda kelelahan.

Pemanfaatan tanaman herbal sebagai tonikum diharapkan tidak hanya berhenti pada bentuk ekstrak saja tetapi dikembangkan lebih lanjut menjadi ekstrak terpurifikasi. Pembuatan ekstrak terpurifikasi dimaksudkan untuk menyederhanakan komponen dalam ekstrak. Penyederhanaan tersebut dapat dilakukan dengan cara fraksinasi. Penelitian lanjutan yang dapat dilakukan adalah uji efek tonikum berbagai fraksi dari ekstrak etanol buah mengkudu.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol buah mengkudu dosis 400 dan 800 mg/kgBB terbukti mempunyai efek tonikum. Senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol buah mengkudu adalah senyawa golongan flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A., Hakim, E.H., Makmur, L., Syah, Y.M., Juliawaty, L.D., dan Mujahidin, D., 2008, *Ilmu Kimia dan Tumbuh-Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid I, Penerbit ITB, Bandung, 16
- Arum, Y.P., 2012, Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*), *Jurnal MIPA*, **35** (2), 165-174
- Cao, S., Shang, H., Wu, W., Du, J., and Putheti, R., 2009, Evaluation of Anti-Athletic Fatigue Activity of *Schizandra chinensis* Aqueous Extracts in Mice, *African Journal of*

- Pharmacy and Pharmacology*, **3** (11), 593-597
- Davis, J.M., Zhao, Z., Stock, H.S., Mehl, K.A., Buggy, J., and Hand, G.A., 2003, Central Nervous System Effects of Caffeine and Adenosine on Fatigue, *American Journal Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, **284** (2), 399-404
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 323, 353, 354, 359
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Penerbit ITB, Bandung, 49, 50, 70, 74
- Hu, Q.L., Zhang, L.J., Li, Y.N., Ding, Y.J., and Li, F.L., 2010, Purification and Anti-Fatigue Activity of Flavonoids from Corn Silk, *International Markham, K.R., 1988, Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 1-103
- Mutschler, E., 1991, *Dinamika Obat*, diterjemahkan oleh Mathilda B. Widiyanto dan Anna Setiadi Ranti, Edisi 5, Penerbit ITB, Bandung, 157-162
- Nagalingam, S., Sasikumar, C.S., and Cherian, K.M., 2012, Extraction and Preliminary Phytochemical Screening of Active Compounds in *Morinda citrifolia* Fruit, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, **5** (2), 179-181
- Sambodo, N.W., 2009, Uji Efek Tonik Madu Rambutan pada Mencit Putih Jantan dengan Metode Natatory Exhaustion, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta
- Sari, L.O.R.K., 2006, *Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya*, Penerbit Aneka Ilmu, Semarang, 6
- Tony, H., 2006, *Mengkudu Khasiat dan Peluang Usahanya*, Penerbit Aneka Ilmu, Semarang, 4-7
- Turner, R.A., 1965, *Screening Methods In Pharmacology*, Academic Press, New York and London, 76-77
- Journal of Physical Sciences*, **5** (4), 321-326
- Jin, H.M., and Wei, P., 2011, Anti-Fatigue Properties of *Tartary buckwheat* Extracts in Mice, *International Journal of Molecular Sciences*, **12** (8), 4770-4780
- oewana, S.M.D., 2003, *Gangguan Mental dan Perilaku Akibat Penggunaan Zat Psikoaktif : Penyalahgunaan NAPZA/Narkoba*, Edisi II, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 187, 189
- Li, W., Li, T., and Tang, K., 2009, Flavonoids from Mulberry Leaves by Microwave-Assisted Extract and Anti-Fatigue Activity, *African Journal of Agricultural Research*, **4** (9), 898-902
- Wagner, H., and Bladt, S., 1995, *Plant Drug Analysis Thin Layer Chromatography Atlas*, 2nd Edition, Springer, Berlin, 196, 197 (Markham, 1988).
- Wahyuni, A.S., dan Kusumawati, F., 2008, Efek Tonik Ekstrak Air Biji Cola (*Cola nitida* Schott & Endl) pada Mencit Jantan, *Skripsi*, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta