

**BUKU  
AJAR**



**TEKNIK  
EVALUASI  
BIOAKTIVITAS**

DISUSUN OLEH:

Apt. Dwisari Dillasamola, M.Farm

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan "**Buku Ajar Teknik Evaluasi Bioaktivitas**". Selesaiannya penyusunan buku ajar ini tidak lepas dari doa, ilmu dan dukungan yang diberikan oleh orang-orang hebat dan terkasih. Didalam penyusunan buku ini penulis berusaha semaksimal mungkin dengan kemampuan penulis demi penyelesaian buku ini. Tetapi penulis hanya manusia biasa, tak luput dari kesalahan baik dari segi teknis penulisan dan tata bahasa.

Oleh karena itu, penulis dengan senang hati menerima kritik dan saran dari pembaca untuk perbaikan buku ini. Semoga buku ini dapat bermanfaat bagi kemajuan ilmu pengetahuan pada masa yang akan datang.

Padang, November 2021

## Lembaran Pengesahan

Buku ajar Teknik Evaluasi Bioaktivitas

Hari : Rabu

Tanggal : 23 Februari 2022

Disetujui oleh :

Kepala Program Studi S1 Fakultas Farmasi  
Universitas Andalas



Dr. Apt, Meri Susanti, S.Si, M.Farm  
NIP : 197705282008122002



## **BUKU AJAR TEKNIK EVALUASI BIOAKTIVITAS**

Penulis:  
Dwisari Dillasamola

ISBN : 978-623-395-230-9

### **Penerbit :**

LPPM – Universitas Andalas  
Gedung Rektorat Lantai 2 Kampus Unand Limau Manis Kampus Unand Limau Manis Kota Padang  
Sumatera Barat Indonesia

Web: [www.lppm.unand.ac.id](http://www.lppm.unand.ac.id)  
Telp. 0751-72645  
Email: [lppm.unand@gmail.com](mailto:lppm.unand@gmail.com)

**Hak Cipta dilindungi Undang Undang.**

**Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk apapun dan dengan cara apapun tanpa ijin tertulis dari penerbit**

## **Daftar Isi**

1. Cover.....	1
2. Daftar Isi.....	3
3. Teknik Evaluasi Antidepresan.....	4
4. Teknik Evaluasi Antistress.....	21
5. Teknik Evaluasi Antiansietas.....	41
6. Teknik Evaluasi Analgetik.....	55
7. Teknik Evaluasi Antihipertensi.....	65
8. Referensi.....	81

## **TEKNIK EVALUASI AKTIVITAS ANTIDEPRESAN**

### **I. Definisi Depresi**

Depresi merupakan kondisi dimana seseorang mengalami perubahan perasaan yaitu merasa sedih, kecewa serta merasa kehilangan dan kegagalan sehingga tidak mampu beradaptasi pada lingkungan. atau bisa dikatakan depresi adalah kondisi yang mempengaruhi individu secara fisiologis, afektif, kognitif dan perilaku sehingga merubah respon serta pola yang biasanya dilakukan.

Depresi adalah suatu kondisi medis-psikiatris dan bukan sekedar suatu keadaan sedih, bila kondisi depresi seseorang sampai menyebabkan terganggunya aktivitas sosial sehari-harinya maka hal itu disebut sebagai suatu Gangguan Depresi. Beberapa gejala Gangguan Depresi adalah perasaan sedih, rasa lelah yang berlebihan setelah aktivitas rutin yang biasa, hilang minat dan semangat, malas beraktivitas, dan gangguan pola tidur. Gejalanya tidak disebabkan oleh kondisi medis, efek samping obat, atau aktivitas kehidupan. Kondisi yang cukup parah menyebabkan gangguan klinis yang signifikan atau kerusakan dalam keadaan sosial, pekerjaan, atau bidang-bidang penting lainnya. Obat depresi/ antidepresan / anti depresi adalah obat yang digunakan untuk membantu orang yang mengalami depresi. Banyak orang depresi membaik dengan pengobatan obat-obat depresi yang ada. Antidepresan merupakan obat-obat yang efektif pada pengobatan depresi, meringankan gejala gangguan depresi, termasuk penyakit psikis yang dibawa sejak lahir.

Kesimpulan dari penjelasan tersebut, depresi adalah suatu kondisi tidak normal yang terjadi pada seseorang yang disebabkan kurangnya kemampuan beradaptasi dengan suatu kejadian atau kondisi yang terjadi sehingga berpengaruh pada kehidupan psikis, fisik maupun sosial individu.

Penggolongan sederhana didasarkan pada asal adalah

- a. Depresi “Re Depresi “Re--active” atau “sekunder” (paling banyak; diatas active” atau “sekunder” (paling banyak; diatas 60%). Terjadi sebagai 60%). Terjadi sebagai respon atas rangsangan nyata seperti sedih,sakit. Dll. respon atas rangsangan nyata seperti sedih,sakit. Dll.
- b. Depresi “endogen” merupakan gangguan biokimia berdasarkan genetik dengan Depresi “endogen” merupakan gangguan biokimia berdasarkan

genetik dengan tanda tidak mampu menghadapi stress biasa (kira-kira tanda tidak mampu menghadapi stress biasa (kira-kira 25%); dan 25%);

- c. Depresi yang ada hubungan dengan penyakit affektif bipolar (manic-depresif, 10- Depresi yang ada hubungan dengan penyakit affektif bipolar (manic-depresif, 1015%). Obat yang dibicarakan dalam bab ini terutama dalam pengobatan tipe kedua.

## **II. Epidemiologi**

Gangguan depresif bisa terjadi pada semua usia, dengan riwayat keluarga yang mengalami gangguan depresif, biasanya gangguan ini dimulai pada usia 15 dan 30 tahun. Usia paling awal dikatakan 5-6 tahun sampai 50 tahun dengan rerata pada usia 30 tahun. Gangguan depresif berat rata-rata dimulai pada usia 40 tahun (20-50 tahun). Epidemiologi ini tidak tergantung ras dan tak ada hubungannya dengan sosioekonomi. Perempuan juga dapat mengalami depresi pasca melahirkan (DepkesRI, 2007).

## **III. Etiologi**

Etiologi gangguan depresi melibatkan banyak faktor, seperti faktor genetik, faktor psikososial, dan faktor biologi. Penyebab gangguan mental senantiasa dipikirkan dari pandangan organobiologik, sosiokultural dan psikoedukatif. Dari sisi biologik dikatakan adanya gangguan pada serotonin, neurotransmitter norepinefrin, dan dopamine. Ketidakseimbangan kimiawi pada otak yang bertugas menjadi penerus komunikasi antar serabut saraf mengakibatkan tubuh menerima komunikasi secara salah dalam pikiran, perilaku dan perasaan. Oleh karena itu, tujuan terapi farmakologik adalah memperbaiki kerja pada neurotransmitter norepinefrin, dopamine dan serotonin.

## **IV. Patofisiologi**

Patofisiologi depresi dapat dijelaskan melalui beberapa hipotesis berikut:

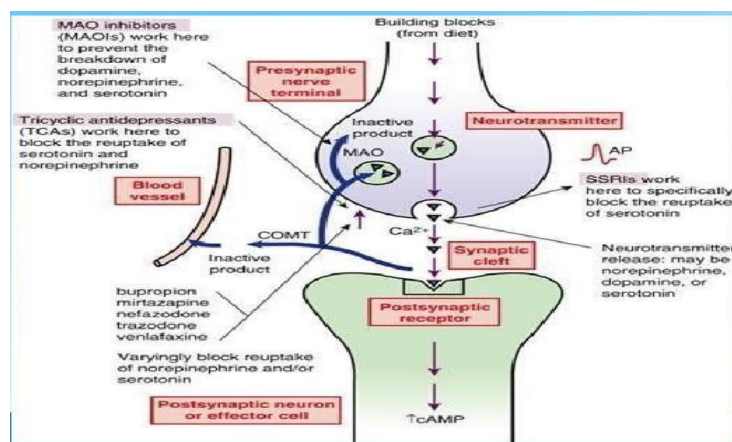
- a. Hipotesis amina biogenik, mengatakan bahwa depresi dikarenakan menurunnya atau berkurangnya jumlah neurotransmitter serotonin (5-HT), norepinefrin (NE), serta dopamin (DA) di dalam otak
- b. Hipotesis sensitivitas reseptor, yaitu diakibatkan perubahan patologis pada reseptor disebabkan karena terlalu kecilnya stimulasi oleh monoamina sehingga dapat memicu depresi.



c. Hipotesis desregulasi, mengatakan bahwa tidak beraturannya neurotransmitter sehingga mengakibatkan gangguan depresi dan psikiatrik. Dalam teori ini ditekankan pada gagalnya homeostatis sistem 9 neurotransmitter, bukan pada penurunan ataupun peningkatan absolut aktivitas neurotransmitter

Timbulnya depresi dihubungkan dengan peran beberapa neurotransmitter aminergik. Neurotransmitter yang paling banyak diteliti ialah serotonin. Konduksi impuls dapat terganggu apabila terjadi kelebihan atau kekurangan neurotransmitter di celah sinaps atau adanya gangguan sensitivitas pada reseptor neurotransmitter tersebut di post sinaps sistem saraf pusat. Pada depresi telah diidentifikasi 2 sub tipe reseptor utama serotonin yaitu Reseptor 5HT1A dan 5HT2A

## V. Obat Antidepresan



Gambar 1. Mekanisme kerja obat anti depresan (Joel, dkk., 2012).

Obat antidepresan adalah obat-obatan yang mampu memperbaiki suasana jiwa (mood) dengan meringankan gejala keadaan murung (Tjay T.H, Rahardja, K, 2010). Pemberian obat antidepresan merupakan salah satu aspek dalam menangani penderita depresi, obat diharapkan dapat menghilangkan atau menurunkan emosi-emosi negatif dan memperbaiki mood bagi penderita depresi.

Sebagian besar obat antidepresan dalam klinis, menghambat baik secara langsung maupun tidak langsung kerja dari serotonin dan/atau norepinefrin dalam otak (Richard, A.H, 2011).

Antidepresan yang tersedia saat ini terdiri dari beragam tipe kimiawi. Perbedaan ini menjadi dasar untuk membedakan beberapa subgolongan yaitu

Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRI), Serotonin–Norepinephrine Reuptake Inhibitors (SNRI), Tetrasiklik (TCA), dan Inhibitor Monoamin Oksidase (MAOI).

#### Jenis-jenis obat antidepresan

##### 1. Selective Serotonin Re-uptake Inhibitor (SSRIs)

Serotonin adalah neurotransmitter yang terkait dengan perasaan sehat dan bahagia. Pada otak orang yang mengalami depresi, produksi serotoninnya rendah.

SSRI digunakan untuk mengobati depresi sedang sampai berat. SSRI bekerja memblokir serotonin agar tidak diserap kembali oleh sel saraf (saraf biasanya mendaur ulang neurotransmitter ini). Hal ini menyebabkan peningkatan konsentrasi serotonin, yang dapat meningkatkan mood dan kembali menumbuhkan minat terhadap aktivitas yang dulunya Anda sukai.

SSRI adalah jenis obat depresi yang paling sering diresepkan karena risiko efek sampingnya tergolong rendah. Contoh obat-obatan dalam jenis ini adalah escitalopram (Lexapro), fluoxetine (Lovan atau Prozac), paroxetine (Aropax), sertraline (Zoloft), dan citalopram (Cipramil).

##### 2. Serotonin and Norepinephrine Reuptake Inhibitors (SNRIs)

SNRI menghambat serotonin dan norepinephrine agar tidak diserap kembali oleh sel saraf. Norepinephrine terlibat dalam sistem saraf otak yang memicu respon rasa ketertarikan terhadap rangsangan dari luar dan memotivasi mereka untuk melakukan sesuatu. Oleh karena itu, obat depresi jenis SNRI diyakini lebih efektif daripada obat jenis SSRI yang hanya berfokus pada serotonin.

Obat antidepresan yang termasuk dalam kelompok SNRI adalah venlafaxine (Effexor XR), desvenlafaxine (Pristiq), duloxetine (Cymbalta), dan reboxetine (Edronax).

##### 3. Trisiklik

Trisiklik bekerja langsung menghambat sejumlah neurotransmitter, termasuk serotonin, epinefrin, dan norepinephrine, agar tidak kembali terserap

sekaligus juga mengikat reseptor sel saraf. Biasanya, obat ini diresepkan untuk orang-orang yang sebelumnya pernah diberikan SSRI namun tidak ada perubahan gejala.

Efek psikologik, pada manusia normal menimbulkan rasa lelah, obat tidak meningkatkan alam perasaan (elevation of mood), dan meningkatnya rasa cemas disertai gejala yang menyerupai efek atropin.

Sebagian efek samping dibenzazepin mirip atropin. Tetapi sering terjadi pengeluaran keringat yang berlebihan, yang bertentangan dengan efek atropin. Obat ini harus digunakan dengan hati-hati pada pasien glukoma atau hipertrofi prostat. Dibenzazepin menyebabkan perasaan lemah dan lelah menyerupai efek fenotiazin. Pasien lanjut usia lebih sering menderita pusing, hipotensi postural, sembelit, sukar berkemih, edema dan tremor. Imipramin serupa dengan fenotiazin menimbulkan ikterus kolestatik, gejala ini hilang jika pengobatan dihentikan. Berdasarkan idiosinkrasi atau alergi, imipramin dapat menimbulkan agranulositosis. Kadang Kadang timbul eksantema, fotosensitivitas, serupa akibat fenotiazin. Efek toksik imipramin akut ditandai dengan hiperpireksia, hipertensi, konvulsi dan koma. Pada keracunan dapat menimbulkan gangguan konduksi jantung dan aritmia.

Obat antidepresan yang termasuk dalam golongan ini adalah amitriptyline (Endep), clomipramine (Anafranil), dosulepin (Prothiaden atau Dothep), doxepin (Deptran), imipramine (Tofranil), nortriptyline (Allegron).

#### 4. Monoamine Oxidase Inhibitors (MAOIs)

Monoamine oxidase inhibitor (MAOIs) bekerja menghambat enzim monoamine oxidase yang dapat menghancurkan serotonin, epinefrin, dan dopamin. Ketiga neurotransmitter ini bertanggung jawab untuk menimbulkan perasaan bahagia.

Sebagai contoh obat jenis ini adalah tranlycypromine (Parnate), phenelzine (Nardil), dan isocarboxazid (Marplan). Biasanya MAOI diresepkan ketika obat-obatan lainnya tidak memberikan perbaikan gejala. MAOI dapat menimbulkan interaksi dengan beberapa makanan, seperti keju, acar/asinan, dan anggur. Oleh karena itu, Anda harus berhati-hati dengan makanan yang Anda konsumsi saat sedang menggunakan obat tersebut.

### 5. Noradrenaline and spesific serotonergic antideppresants (NASSAs)

NASSAs adalah obat antidepresan yang bekerja dengan meningkatkan kadar noradrenalin dan serotonin. Obat yang termasuk dalam jenis ini adalah mirtazapine (Avanza). Serotonin dan noradrenalin merupakan neurotransmitter yang mengatur mood dan emosi. Serotonin juga ikut mengatur siklus tidur dan nafsu makan.

**Tabel 1. Indikasi Pemberian Obat Anti Depresan**

<b>Depresi mayor</b>	<b>Depresi akut, pemeliharaan pengobatan depresi dan mencegah kekambuhan, depresi bipolar (ketika digunakan dengan stabiliastor suasana hati), depresi atipikal dan gangguan distimik</b>
<b>Gangguan ansietas</b>	<b>Gangguan panik, gangguan obsesif – konvulsi, gangguan ansietas sosial, gangguan ansietas umum, GSPT</b>
<b>Bukti untuk kategori antidepresan lain</b>	
<b>Selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs)</b>	<b>Indikasi tambahan menurut U.S food and drug administration (FDA) : bulinia nerfosa, gangguan premenstrual disporik</b>

**Tabel 2. Contoh Obat Antidepresan**

<b>NAMA GENERIK</b>	<b>DOSIS HARIAN DEWASA (mg/hari)</b>	<b>CARA PEMBERIAN</b>
<b>Selective serotonin reuptake inhibitors (SSRI)</b>		
Citalopram	20 – 40	PO,L
Escitalopram	10-20	PO,L
Plueksetine	20-60	PO,L
Pluvoksamine	100-200	PO
Pluvoksamine Maleate	100-200	PO
Paroksetine	20-60	PO, CR, L
Sertraline	50-200	PO,L
<b>Obat-Obat Anti Depresan Lainnya</b>		
Bupropion	150-450 <sup>+</sup>	PO, SR, XR
Maprotiline	50-200	PO
Mirtazapine	15-45	PO, ODT
Vilazodone	10-40	PO
Serotonin Antagonist Reuptake Inhibitors (SARI)		
Nefazodone	300-500	PO
Trazodone	150-300	PO
<b>Serotonin – Norepinephrine Reuptake Inhibitor (SNRI)</b>		
Desvenlafaksin	50-100	PO
Milnacitran	12-100	PO
Venlafaksine	75-300	PO, XR
<b>Tricyclic Antidepressant Drugs (Tca)</b>		
Tersier (Orang Tua)		
Amitriptyline	150-300	PO, IM
Amoxapine	200-300	PO
Clomipramine	100-250	PO
Doxepin	150-300	PO,L
Imipramine	150-300	PO

Trimipramine	150-300	PO
Sekunder (Metabolit)		
Desipramine	150-300	PO,L
Notriptyline	50-150	PO,L
Protriptyline	15-60	PO
Tetracyclics		
Amoxapin	150-300	PO
Maprotiline	75-200	PO
Monoamine Oxidase Inhibitors (MAOI)		
Isocarboxazid	20-60	PO
Phenelzine	45-90	PO
Selegiline	10-50	PO
Selegiline	6-12	TS
Tranylcypromine	20-60	PO

Tabel 3. Efek Samping Obat Anti Depressan

Antidepresan	Reseptor/Neurotransmitter	Efek Samping
<b>TCA</b>	H <sub>1</sub>	Mengantuk, Hipotensi, penambahan BB.
	Ach	Pandangan kabur, mulut kering, konstipasi, takikardi, retensi urin, disfungsi kognitif.
	Alfa <sub>1</sub>	Hipotensi postural, pusing, takikardi, disfungsi memori.
	5-HT <sub>2</sub> 5-HT	Hipotensi, disfungsi ejakulasi. Gangguan gastrointestinal (mual,diare), disfungsi seksual.
	NE	Tremor, takikardi, disfungsi ereksi/ejakulasi
<b>MAOI</b>	ACh	Efek samping antikolinergik
<b>SSRI</b>	5-HT	Gangguan gastrointestinal (mual,diare), disfungsi seksual.
<b>Antidepresan lain</b> <b>Amoxapine</b>	NE	Tremor, takikardi, disfungsi ereksi/ejakulasi
	5-HT	Gangguan gastrointestinal (mual,diare), disfungsi seksual.
	D <sub>2</sub>	

<b>Nefazodone</b>	5-HT	Efek samping antikolinergik. Mengantuk, Hipotensi, penambahan BB.
	NE	Efek samping antikolinergik.
	5-HT <sub>2</sub> Alpha <sub>1</sub>	Gangguan gastrointestinal (mual,diare), disfungsi seksual.
<b>Trazodone</b>	5-HT	Tremor, takikkardi, disfungsi ereksi/ejakulasi
	5-HT <sub>2</sub> H <sub>1</sub> Alpha <sub>1</sub>	Hipotensi, disfungsi ejakulasi. Hipotensi postural, pusing, takikkardi, disfungsi memori.
	Alpha <sub>2</sub> ACh	Gangguan gastrointestinal (mual,diare), disfungsi seksual.
<b>Venlafaxine</b>	NE	Hipotensi, disfungsi ejakulasi
	5-HT	Mengantuk, Hipotensi, penambahan BB. Hipotensi postural, pusing, takikkardi, disfungsi memori.
<b>Vilazodone</b>	DA	Priapismus
	5-HT	Efek samping antikolinergik. Tremor, takikkardi, disfungsi ereksi/ejakulasi Gangguan gastrointestinal (mual,diare), disfungsi seksual. Aktivasi Psikomotor

Tabel 4. Pertimbangan Perawatan Untuk Efek Samping Obat Anti Depresan

Efek Samping	Asuhan keperawatan dan pertimbangan pendidikan kesehatan
Efek Samping Antikolinergik, pandangan kabur, mulut kering.	Sementara: hindari tugas-tugas berbahaya Anjurkan minum, berkumur secara teratur, kunyah permen karet dan permen bebas gula; periksa nyeri pada mulut.
Konstipasi	Tingkatkan asupan cairan, diet tinggi serat dan kasar, olahraga, monitor kebiasaan buang air; gunakan pencahar hanya jika memang dibutuhkan.
Takikardi	Sementara, biasanya tidak signifikan (kecuali dengan penyakit jantung koroner) tetapi bisa menakutkan, membatasi kafein; <i>beta blockers</i> bisa membantu; terapi suportif.
Retensi Urin	Anjurkan asupan cairan dan pengosongan kandung kemih secara teratur; awasi pola pengosongan kandung kemih; berikan bethanicol; kateterisasi.
Disfungsi kognitif	Sementara, hindari tugas-tugas berbahaya, sesuaikan gaya hidup; terapi suportif.
Terhambatnya sitokrom P-450*	SSRI menghambat isoenzim hati sitokrom p-450, dimana berperan penting dalam metabolisme berbagai obat (TCA, Trazodone, barbiturat, kebanyakan benzodiazepin carbamazepine, narkotik, neuroleptik, phenytoin, vaiproate,

## **VI. Prosedur Pengujian Antidepresan**

1. Sediakan 4 kelompok mencit putih jantan dengan berat badan 15-20 g yang masing-masing kelompoknya terdiri dari 5 ekor. Kemudian ditimbang berat badan tiap ekor mencit untuk menentukan dosis yang tepat. Untuk setiap mencit diinjeksikan imipramin (i.p.) dengan dosis yang sudah direncanakan sebelumnya.

Misalnya :

Kelompok 1 : diberi saline (kontrol)

Kelompok 2 : diberi 5 mg/kg BB imipramin

Kelompok 3 : diberi 10 mg/kg BB imipramin

Kelompok 4 : diberi 20 mg/kg BB imipramin

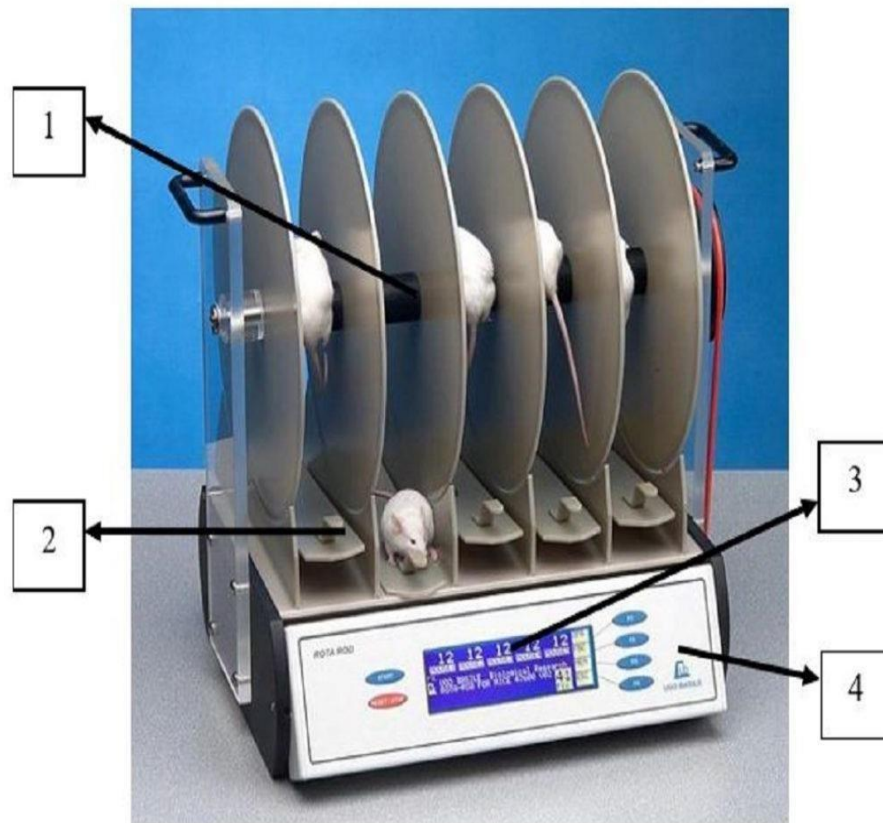
2. Kemudian dilakukan pengujian terhadap masing-masing mencit dengan alat yang sudah dipersiapkan sebelumnya.
3. Kemudian dicatat kemampuan setiap individu untuk tetap bertahan akibat pengaruh pergerakan pada masing-masing alat.

### **Parameter yang dicatat :**

1. Dengan alat uji renang dicatat waktu yang diperlukan hewan percobaan untuk bertahan berenang setelah bagian ekornya diberi beban seberat tertentu. Hewan dikatakan terbenam bila kepalanya tidak muncul lagi ke permukaan air selama 3 detik.
2. Dengan uji pakai alat waterwheel dicatat waktu yang diperlukan hewan percobaan untuk tetap bertahan melawan arus air pada kincir air yang digerakkan dengan kecepatan tertentu.
3. Dengan uji pakai alat rotary road dicatat waktu yang diperlukan hewan percobaan untuk tetap bertahan melawan putaran alat rotary road yang berlawanan arah dengan kecepatan tertentu.
4. Persamaan dari tiga metode uji ini adalah dengan pemberian obat antidepresan waktu yang diperlukan oleh hewan uji untuk melawan



pergerakan yang disebabkan masing- masing alat menjadi semakin panjang dibandingkan terhadap kontrol atau dengan kata lain aktivitas motorik hewan uji menjadi lebih tinggi dibandingkan kontrol.



Gambar 2. Alat Uji Rotary Road

Keterangan gambar sebagai berikut :

1. rotor drum, adalah tempat dimana menempatkan mencit untuk melakukan penelitian.
2. counter time and trip plate, adalah pelat yang berfungsi sebagai tempat jatuhnya mencit yang akan menghitung waktu dan jauhnya perjalanan/ jarak yang ditempuh mencit selama penelitian.
3. display, adalah bagian alat yang menampilkan kondisi alat.
4. control panel, adalah panel kontrol yang berfungsi untuk penghubung antara alat dan pengguna agar alat dapat berjalan sesuai dengan keinginan pengguna.

## Cara menggunakan alat rotary road / rotarod

1. Menyiapkan set alat rotarod.
2. Menghubungkan kabel power alat rotarod dengan sumber arus listrik.
3. Menjalankan alat rotarod.
4. Mengatur kecepatan rotor drum rotarod.
5. Menyiapkan mencit yang sudah diberikan obat.
6. Meletakkan mencit pada rotor drum dengan berlawanan pergerakan rotor drum.
7. Menghitung dan mencatat waktu mencit bertahan pada rotor drum.
8. Memindahkan mencit ke tempat yang seharusnya.
9. Membersihkan alat rotarod setiap setelah percobaan mencit.

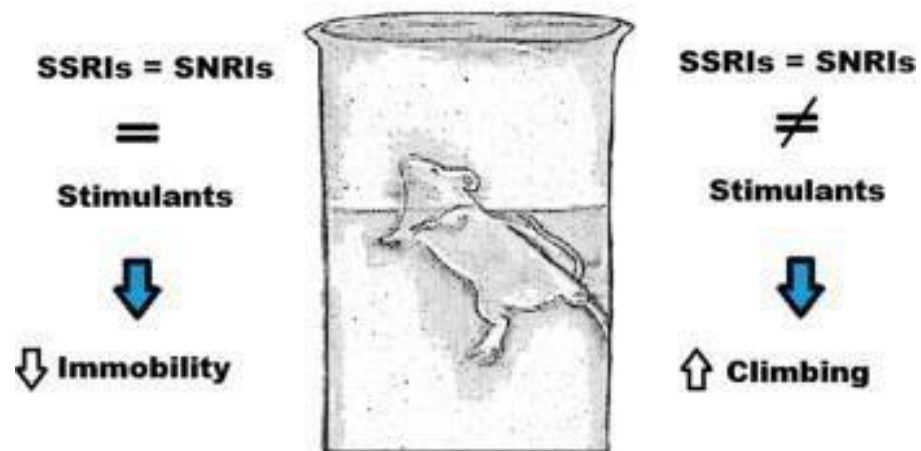
Untuk senyawa antidepresan waktu yang diperlukan oleh masing-masing hewan untuk bertahan melawan pergerakan yang disebabkan oleh masing-masing alat tersebut adalah makin panjang bila dibanding dengan kelompok hewan kontrol.

## VII. Metode-metode pengujian antidepresan lain

### 1. Forced Swimming Test

Forced swimming test sering digunakan untuk menentukan apakah suatu senyawa dapat menunjukkan aktivitas antidepresan. Mencit ditempatkan ke dalam wadah yang berisi air dalam waktu yang lama, sehingga mencit menampilkan serangkaian perilaku yang biasanya menjadi tidak bergerak dalam beberapa menit saat pengujian. Hal tersebut bisa terjadi dikarenakan oleh paparan stres sebelumnya. Pengobatan dengan antidepresan menghasilkan durasi imobilitas yang lebih pendek. Forced swimming test pada mencit peka terhadap berbagai antidepresan, termasuk sebagian besar trisiklik, monoamine oksidase inhibitor dan antidepresan atipikal, tetapi bervariasi dalam menanggapi SSRI (Page et al., 1999).

### FST in Swiss mice

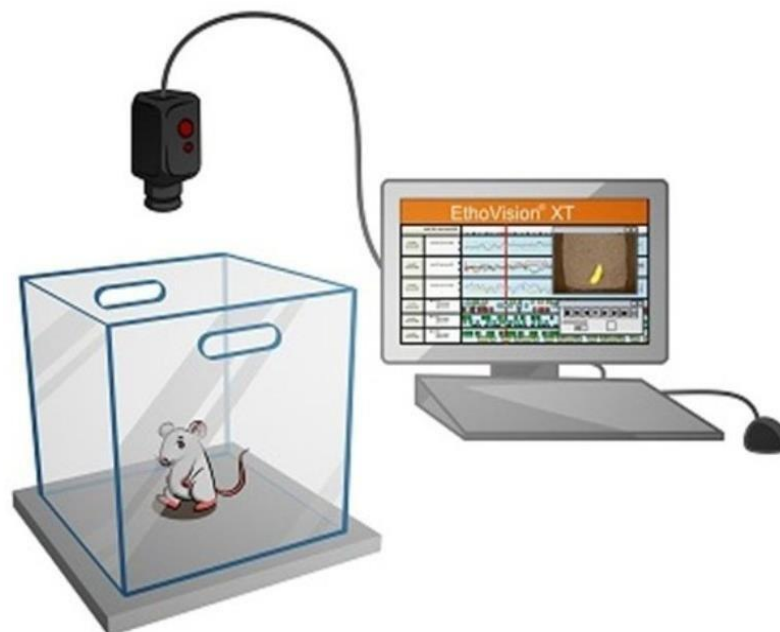


**Prosedur:** Mencit dimasukkan ke dalam kotak uji yang berisikan air. Setelah 1 jam pemberian dosis terakhir, uji dilakukan dengan durasi 7 menit. Mencit dikatakan mengalami immobility jika mencit hanya melakukan gerakan agar kepalanya tetap berada diatas air dan dikatakan mobility jika mencit aktif berenang dan memanjat (climbing)

## 2. Open Field Test

Open field test adalah suatu pengukuran yang umum terhadap eksplorasi perilaku dan aktivitas pada mencit, di mana kualitas dan kuantitas aktivitas mencit dapat diukur. Selain jarak total dari perpindahan, kualitas pergerakan juga dianalisis, termasuk waktu yang dihabiskan di sepanjang dinding (thigmotaxis) dibandingkan dengan waktu di pusat, jarak bergerak yang berbeda, dan rearing (pemeliharaan).

Selain itu, open field test juga digunakan sebagai sarana untuk menilai tingkat aktivitas umum sebagai eksperimen kontrol untuk menguji perilaku lain yang melibatkan aktivitas hewan pengerat. Open field test juga biasanya digunakan untuk menilai efek sedatif, toksik, atau senyawa stimulan. Dengan demikian, tes ini memiliki sejumlah kegunaan dan termasuk dalam analisis menyeluruh tentang perilaku hewan pengerat. Pada dasarnya, open field test adalah arena berpagar, umumnya berbentuk persegi, persegi panjang, atau Universitas Sumatera Utara 23 bundar dengan dinding di sekelilingnya untuk mencegah mencit melarikan diri dengan ukuran bervariasi dari 25 cm<sup>2</sup> hingga lebih dari 250 cm<sup>2</sup>. Secara tradisional berdurasi antara 2 dan 10 menit (Gould et al., 2009).



Gambar ilustrasi Open Field Test

Open field test adalah uji yang digunakan untuk melihat perilaku eksplorasi, aktivitas motorik dan tingkat kecemasan dari hewan uji. Hewan uji dimasukkan kedalam kotak tanpa tutup, kemudian diamati durasi central square (waktu mencit berada di bagian tengah kotak), grooming, dan jumlah crossing

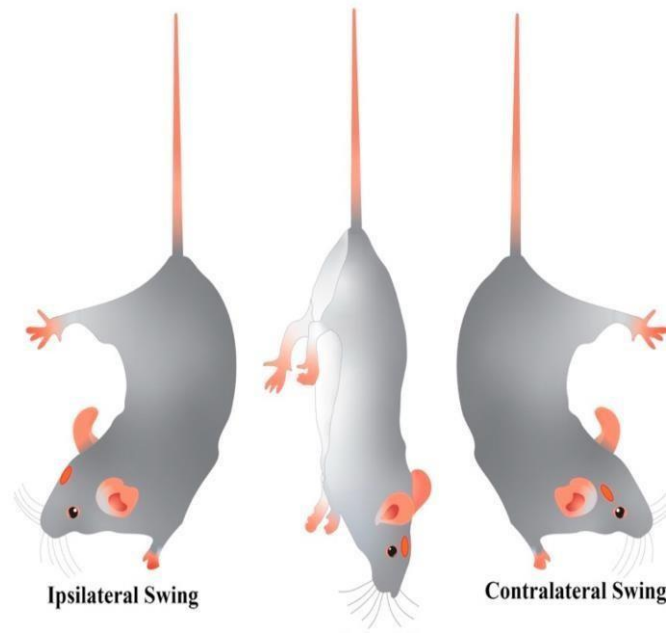
Pada percobaan menggunakan alat ini, Mencit dimasukkan ke dalam sebuah kotak tanpa tutup dengan durasi pengamatan 5 menit. Perlakuan ini dilakukan 45 menit setelah pemberian dosis terakhir. Data yang diperoleh adalah lama waktu central square (CS), grooming dan jumlah crossing.

### **3. Tail Suspension Test**

Tail suspension test adalah paradigma perilaku umum yang digunakan untuk mengevaluasi aktivitas obat-obatan antidepresan. Dalam tes ini mencit digantung di ekornya. Setiap mencit digantung selama 6 menit. Selama perlakuan, dilakukan perekaman perilaku mencit ketika mencit menghindari situasi yang tidak menyenangkan.

Tail suspension test dirancang sebagai pilihan alternatif untuk forced swimming test, namun aturan kedua model tetap sama. Mencit yang digantung diekornya, secara intrinsik berusaha untuk menjauh dari keadaan yang tidak menyenangkan ini. Namun, sebagai hasil dari usaha yang gagal untuk melarikan diri, mencit-mencit tersebut mengalami keputusasaan dan menjadi tidak dapat bergerak. Tingkat imobilitas diduga terkait dengan kondisi seperti depresi pada mencit dan berkurang secara signifikan oleh treatment antidepresan (Aslam, 2016).

**Prosedur:** Batang sepanjang 30 cm diletakkan secara horizontal diantara 2 kayu. Kemudian ekor mencit digantung menggunakan alat perekat ke batang kayu. Perlakuan ini dilakukan 60 menit setelah pemberian dosis terakhir. Durasi pengamatan selama 6 menit, dan diamati waktu imobilitas



Gambar ilustrasi Tail Suspension Test

## TEKNIK EVALUASI AKTIVITAS ANTI STRESS

### ❖ Pendahuluan

Stres adalah suatu gangguan alami yang dialami oleh tubuh yang disebabkan oleh stimulus yang berasal baik dari luar maupun dari dalam tubuh. Atau bisa didefinisikan sebagai reaksi fisiologis yang disebabkan sebagai persepsi menentang terhadap suatu keadaan atau terhadap situasi yang menekan. Serta dapat dikatakan bahwa stres adalah hasil yang umumnya non spesifik sebagai akibat dari permintaan kepada tubuh, dapat berupa efek mental atau somatik. Penyebab stres akan menstimulasi hipotalamus untuk memulai sindrom melalui :

- a. stimulasi saraf simpatik dari sistem saraf otonom dan medula adrenal yang akan menghasilkan respon mediasi yang dikenal sebagai reaksi alarm (respon fight or flight)
- b. Reaksi resistensi yang melibatkan bagian anterior kelenjar pituitari dan korteks adrenal.

Sebagian besar efek stres yang berbahaya bagi tubuh disebabkan sekresi glukokortikoid yang berkepanjangan yang berujung pada peningkatan tekanan darah, kerusakan jaringan otot, diabetes steroid, infertilitas, inhibisi pertumbuhan, inhibisi respon inflamasi, dan sistem imun.

Respon stres dapat berupa agresi dimana terjadinya kenaikan tekanan darah serta gangguan emosional, seperti timbulnya kecemasan hingga depresi ataupun rasa nyeri. Kecemasan menjadi salah satu manifestasi dari terjadinya stres. Keadaan stres dapat timbul cepat atau lambat bergantung pada stimulus yang menyebabkan stres.

Secara umum, stres didefinisikan menjadi 3 macam yaitu:

1. Sebagai stimulus

Stimulus ini berupa beberapa kejadian tertentu yang menimbulkan perasaan tertekan atau sedih.

## 2. Sebagai respon

Stres juga didefinisikan sebagai reaksi seseorang dalam situasi yang penuh dengan tekanan. Suatu organisme merasa terancam, maka ia akan menunjukkan suatu pola respon fisiologis, termasuk pelepasan beberapa hormon dan perubahan denyut jantung, tekanan darah, pernafasan, dan aktivitas gastrointestinal.

## 3. Sebagai timbal balik

Stres didefinisikan suatu timbal balik antara seseorang dengan lingkungannya yang mencakup penilaian terhadap situasi dan kemampuannya mengatasi masalah, disertai dengan respon psikologis dan fisiologis terhadap masalah itu.

Untuk suatu percobaan, hewan yang mudah untuk mengalami stres adalah mencit dan tikus. Hewan-hewan tersebut dapat mengalami stres jika mengalami perubahan suhu, cuaca, serta manipulasi yang kurang wajar.

## ❖ Golongan dan Contoh Obat Anti Stres

Pembagian obat antidepresan dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya yaitu

### 1. Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRI)

Mekanisme kerja dari SSRI (Selective Serotonin Reuptake Inhibitors) adalah menghambat pengambilan 5-HT ke dalam neuron presinaptik. Sering digunakan sebagai lini pertama karena efek samping yang cenderung aman. Obat jenis ini memiliki afinitas tinggi terhadap reseptor monoamine tetapi tidak memiliki afinitas terhadap adrenoreseptor  $\alpha$ , histamin, muskarinik dan asetilkolin yang terdapat juga pada obat antidepresan trisiklik. Efek samping dari SSRI (Selective Serotonin Reuptake Inhibitors) adalah sakit kepala, insomnia, kelelahan, kecemasan, disfungsi seksual, peningkatan berat badan. SSRI (Selective Serotonin Reuptake Inhibitors) dilaporkan berinteraksi dengan 40 obat lainnya menyebabkan serotonin syndrome. Ciri-ciri dari sindrom ini adalah kekakuan, tremor, demam, kebingungan, atau agitasi. SSRI (Selective Serotonin Reuptake Inhibitors) juga dapat menyebabkan sindrom serotonin.



Namun, obat trisiklik tidak memiliki efek samping tersebut kecuali amitriptyline. Penelitian terbaru menyebutkan terdapat obat golongan SSRI (Selective Serotonin Reuptake Inhibitors) yaitu vortioxetine yang dapat ditoleransi dengan baik dan prevalensi efek samping kecil. Vortioxetine dapat meningkatkan kualitas hidup pasien yang menderita depresi dengan signifikan. Beberapa contoh obat yang termasuk ke dalam golongan SSRI (Selective Serotonin Reuptake Inhibitors) adalah citalopram, fluvoxamine, paroxetine, fluoxetine, sertraline, escitalopram, duloxetine dan venlafaxine.

## **2. Serotonin Norepinephrine Reuptake Inhibitor (SNRI)**

SNRI (Serotonin Norepinephrine Reuptake Inhibitor) bekerja dengan melakukan pengangkutan serotonin dan norepinefrin. Pengangkutan norepinefrin secara struktur mirip dengan pengangkutan serotonin. Pengangkutan norepinefrin memiliki afinitas ringan terhadap dopamine. Afinitas sebagian besar SNRI (Serotonin Norepinephrine Reuptake Inhibitor) cenderung lebih besar untuk pengangkut serotonin daripada norepinefrin. Beberapa contoh obat yang termasuk ke dalam golongan SNRI (Serotonin Norepinephrine Reuptake Inhibitor) adalah venlafaxine, duloxetine, desvenlafaxine, milnacipran, levomilnacipran.

## **3. Monoamine Oxidase Inhibitors (MAOIs)**

Bekerja dengan mekanisme meningkatkan konsentrasi norepinefrin, 5-HT, dan dopamine dalam neuron sinaps melalui penghambatan sistem enzim monoamine oxidase (MAO). Monoamin oksidase dalam tubuh memiliki fungsi deaminasi oksidatif katekolamin di mitokondria. Proses ini dihambat oleh MAOI (Monoamine Oxidase Inhibitor) karena terbentuknya suatu kompleks antara MAOI (Monoamine Oxidase Inhibitor) dan MAO (Monoamine Oxidase) sehingga mengakibatkan peningkatan kadar epinefrin, norepinefrin, dan serotonin. MAOI (Monoamine Oxidase Inhibitor) tidak hanya menghambat MAO (Monoamine Oxidase), tetapi menghambat juga enzim lain yang mengakibatkan terganggunya metabolisme obat di hati. Penggunaan obat golongan MAOI (Monoamine Oxidase Inhibitor) sudah sangat jarang

dikarenakan efek toksik. Efek samping yang sering terjadi adalah hipotensi dan hipertensi. Contoh obat MAOI (Monoamine Oxidase Inhibitor) adalah isocarboxazid, phenelzine, tranylcypromine, selegiline.

#### **4. Trisiklik (TCA)**

Obat golongan trisiklik (TCA) efektif untuk penyakit depresi, tetapi penggunaannya telah berkurang karena telah tersedia obat yang mempunyai efektivitas terapi yang sama tetapi mempunyai dosis yang lebih aman dan lebih toleransi. Mekanisme obat golongan trisiklik (TCA) ini bekerja adalah dengan menghambat ambilan dari norepinefrin dan 5-HT, menghambat adrenergik, kolinergik, dan reseptor histaminergik. Contoh obat golongan trisiklik (TCA) adalah Amitriptyline, Imipramine dan nortriptyline.

#### **5. Antidepresan Atipikal**

Antidepresan atipikal bisa dibilang sebagai jenis obat antidepresan, yang baru ditemukan. Sehingga golongan ini tidak masuk ke dalam salah satu kategori yang tercantum diatas. Secara luas, antidepresan atipikal meningkatkan kadar serotonin, norepinefrin, dan dopamin dengan cara yang unik. Beberapa contoh obat antidepresan atipikal, yakni:

- Bupropion, yang diklasifikasikan sebagai penghambat terserapnya dopamin. Antidepresan ini digunakan untuk pengobatan depresi, gangguan afektif musiman, serta membantu orang yang ingin berhenti merokok.
- Mirtazapin, yang digunakan untuk depresi berat. Obat ini bekerja dengan menghambat reseptor hormon stres epinefrin (adrenalin) di otak.
- Trazodone And vortioxetine. Obat digunakan untuk pengobatan depresi berat. Keduanya merupakan antidepresan yang menghambat penyerapan serotonin serta memblokir reseptor adrenergik.

#### **6. Terapi Elektrokonvulsif (ECT)**

Elektrokonvulsif adalah salah satu pengobatan yang efektif untuk mengobati depresi mayor. Pengobatan ini efektif karena respon relatif tinggi dibandingkan dengan pengobatan menggunakan antidepresan. Walaupun

memiliki efikasi yang tinggi, kambuh depresi juga tinggi. Untuk melindungi dari kambuhnya depresi, terdapat 2 strategi yaitu augmentasi ECT (Terapi Elektrokonvulsif) dengan farmakoterapi pada saat fase akut, atau melanjutkan terapi dengan salah satu dari terapi. Terapi elektrokonvulsif (ECT) merupakan suatu jenis pengobatan somatik di mana arus listrik digunakan pada otak melalui elektroda yang ditempatkan pada pelipis.

#### ❖ Metode Evaluasi Aktivitas Anti Stres

##### 1. Metoda Depresan/Potensiasi Narkose

**Menurut Vogel (2002)** salah satu uji untuk mengetahui adanya efek hipnotik sedatif dapat menggunakan uji potensiasi narkose. Potensiasi narkose berasal dari kata **potency** (hubungan antara efek terapeutik obat dan dosis yang dibutuhkan untuk mencapai efek tersebut) dan **narcosis** (penurunan fungsi susunan saraf pusat yang ditimbulkan oleh obat dan ditandai oleh stupor atau insensibilitas).

Jadi, prinsip dari uji ini adalah menggunakan dosis hipnotik yang relatif kecil yang dapat menginduksi tidur pada mencit. Obat depresan yang diberikan sebelumnya dapat mempotensiasi kerja hipnotik yang dimanifestasikan adalah perpanjangan waktu tidur mencit dibandingkan terhadap mencit kontrol. Waktu tidur dinyatakan sebagai periode waktu kehilangan reflek tegaknya, yaitu bila mencit tidak mempunyai kemampuan untuk menyentuh permukaan diam dengan seluruh kakinya dan dapat diletakkan pada sisinya atau punggungnya tanpa segera tegak kembali. Akhir periode tidur adalah saat hewan uji itu tidak lagi rebah pada sisinya atau punggungnya tetapi kembali dengan sendirinya ke posisi tegak yang normal.

Pemberian dosis hipnotik yang relatif kecil dapat menginduksi tidur pada mencit. Obat depresan yang diberikan sebelumnya dapat mempotensiasi kerja hipnotik yang dimanifestasikan dengan terjadinya perpanjangan waktu tidur mencit terhadap kelompok mencit kontrol.

- **Prosedur**

Digunakan mencit jantan dewasa dengan berat badan 20-25 g dan sehat. Sebelum percobaan terlebih dahulu mencit dipuasakan dan dikelompokkan menurut tingkatan dosis yang direncanakan sebelumnya.

1. Pada hari percobaan, **mencit ditimbang** dan **diberi sediaan uji secara i.p atau oral** dengan dosis yang telah direncanakan.
2. **Setengah jam** (pemberian sediaan uji i.p) atau **45 menit** (pemberian sediaan uji oral) setelah itu kepada semua mencit **disuntikan i.p. pentobarbital dengan dosis 45 mg/kg BB dengan volume pemberian 1% BB.**
3. Diamati untuk masing-masing mencit **waktu induksi tidur (oncet)** yaitu waktu mulai penyuntikan penobarbital sampai saat hilangnya refleks pemulihan posisi tubuh.
4. **Lama tidur mencit juga dicatat**, yaitu saat mula hilangnya reflek pemulihan posisi tubuh sampai saat munculnya kembali refleks pemulihan posisi tubuh normal.

Waktu induksi tidur dan lama tidur kelompok hewan uji dapat dibandingkan dengan kelompok hewan kontrol. **Obat depresan dapat memperpendek waktu induksi tidur dan memperpanjang waktu lama tidur** dari hewan percobaan bila dibandingkan dengan hewan kontrol.

- Contoh Penggunaan Metode Potensiasi Narcose pada **pengujian efek antistres pada ekstrak etanol daun pandan wangi (Pandanus amarylifolius Roxb.) pada mencit jantan**

- **Alat Yang Digunakan:**

1. Seperangkat alat untuk membuat ekstrak, yaitu perkolator
2. *Blender* (Retsch)
3. *Vacuum rotary evaporator* (Janke & Kunket tipe RVOS-ST ikalabortechnik)
4. Kertas saring
5. *Oven* (Memmert)
6. Seperangkat alat gelas seperti beaker glass, labu ukur, gelas ukur, pipet ukur, pipet tetes, pengaduk, erlenmeyer, corong, cawan petri

7. Neraca elektrik (METTLER PM 4600 DeltaRange®)
8. Jarum suntik (Terumo®)
9. *Stopwatch* (Alba)
10. *Styrofoam* sebagai alas tidur mencit

- **Bahan yang Digunakan**

1. **Bahan tanaman**

Tanaman yang digunakan adalah **daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.)** yang dikeringkan di bawah sinar matahari langsung dengan ditutupi kain hitam selama 1 hari dan kemudian dipanaskan dalam *oven* 70°C selama 30 menit. Tanaman pandan wangi yang digunakan diambil dari daerah Baledono, Kabupaten Purworejo, Jawa Tengah, pada waktu sore hari.

2. **Subyek uji:** Subyek uji yang digunakan adalah mencit jantan galur Swiss dengan berat badan 20-30 g dan umur 2-3 bulan

3. **Bahan-bahan kimia**

- A. Bahan untuk ekstraksi adalah **etanol 70% teknis** (Brataco Chemika).
- B. **Diazepam** (Indo Farma), berupa larutan untuk injeksi dalam ampul dengan konsentrasi 5 mg/ml.
- C. **Natrium tiopental** (Pentothal®) (Abbott), berupa serbuk untuk injeksi dalam vial berisi 500 mg.
- D. **Aquades** sebagai pelarut diazepam dan natrium tiopentale.
- E. **CMC-Na** (Brataco Chemika) sebagai pensuspensi ekstrak etanol daun

- **Prosedur Pengujian**

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan galur Swiss, umur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 g sebanyak 54 ekor. Sebelum digunakan mencit dipuasakan selama kira-kira 16 jam dengan diberi air minum. Pemberian perlakuan dilakukan per oral, 45 menit

kemudian mencit diinduksi natrium tiopental dengan jalur intraperitoneal (i.p.).

Pembagian kelompok perlakuan hewan uji, yaitu :

- **Kelompok I** : diberi aquades sebagai kontrol negatif dosis 16,667 mg/kgBB dan natrium tiopental dosis 45,5 mg/kgBB
- **Kelompok II** : diberi diazepam sebagai kontrol positif dosis 0,260 mg/kgBB dan natrium tiopental dosis 45,5 mg/kgBB
- **Kelompok III** : diberi diazepam sebagai kontrol positif dosis 0,445 mg/kgBB dan natrium tiopental dosis 45,5 mg/kgBB
- **Kelompok IV** : diberi diazepam sebagai kontrol positif dosis 0,760 mg/kgBB dan natrium tiopental dosis 45,5 mg/kgBB
- **Kelompok V** : diberi diazepam sebagai kontrol positif dosis 1,300 mg/kgBB dan natrium tiopental dosis 45,5 mg/kgBB
- **Kelompok VI** : diberi ekstrak etanol daun pandan wangi dosis 4000 mg/kgBB dan natrium tiopental dosis 45,5 mg/kgBB
- **Kelompok VII** : diberi ekstrak etanol daun pandan wangi dosis 5040 mg/kgBB dan natrium tiopental dosis 45,5 mg/kgBB
- **Kelompok VIII** : diberi ekstrak etanol daun pandan wangi dosis 6350 mg/kgBB dan natrium tiopental dosis 45,5 mg/kgBB
- **Kelompok IX** : diberi ekstrak etanol daun pandan wangi dosis 8000 mg/kgBB dan natrium tiopental dosis 45,5 mg/kgBB

Mencit yang telah diinduksi natrium tiopental diletakkan di dalam bejana pengamatan yang dialasi dengan *styrofoam*

- **Penentuan Efek Antistres**

Pengujian efek antistres dilakukan dengan **menghitung waktu tidur masing-masing mencit dalam detik untuk tiap kelompok**. Waktu tidur mencit adalah sejak saat terjadi induksi tidur sampai saat munculnya kembali refleks pemulihan posisi tubuh normal. Efek antistres dapat dilihat dari perpanjangan waktu tidur mencit yang diperoleh dengan cara menghitung selisih waktu tidur kelompok perlakuan dengan waktu tidur kelompok kontrol negatif. **Apabila waktu tidur kelompok perlakuan lebih panjang daripada waktu tidur kelompok kontrol negative maka obat tersebut memiliki aktivitas anti-stress.**



## **2. Metode *Swimming Endurance Test***

- **Prinsip**

Metode ini bertujuan menguji kemampuan fisik hewan uji untuk melihat efikasi dari perlakuan yang diberikan. Struggling merupakan keadaan yang menunjukkan mencit berenang sekuat-kuatnya sebagai insting untuk bertahan hidup dalam air karena mencit bukan merupakan binatang air. Hewan uji akan dimasukkan kedalam bejana berisi air selama yang diperlukan untuk kemudian diamati waktu imobilitas yang menggambarkan kemampuan hewan uji untuk menolong dirinya sendiri. Waktu imobilitas merupakan keadaan dimana hewan coba sudah tidak dapat bergerak lagi dan kehilangan keinginan untuk tetap bertahan di permukaan. Metode ini seringkali digunakan untuk mengukur aktivitas anti stress.

Uji ini efektif untuk menginduksi kepanikan dan stress pada mencit. Pola pergerakan mencit akan terlihat tenang dan teratur dalam menggerakan tubuhnya untuk dapat tetap bertahan di permukaan air, posisi tubuh mencit sebagian besar tidak tenggelam sampai mencit kehabisan stamina (exhausted). Pada mencit yang tidak diberi perlakuan anti stress pola renang terlihat panik dan tidak beraturan dan

memicu tingkat depresi lebih tinggi dibandingkan dengan mencit yang diberi anti stress.

- **Prosedur Kerja berdasarkan jurnal Uji Aktivitas Adaptogenik Ekstrak Etanol Kulit Batang Bidara (*Ziziphus Mauritiana* Auct. Non Lamk.) dengan Metode Swimming Endurance Test pada Mencit Galur Balb/C**

Adaptogen merupakan istilah untuk suatu bahan yang dapat membantu tubuh beradaptasi terhadap stres. Secara empiris adaptogen banyak digunakan dalam bentuk tonik yang diberikan untuk meningkatkan vitalitas tubuh selama atau setelah masa pemulihan penyakit dan ketika terjadi perubahan kondisi lingkungan hidup.

**a. Alat**

- Blender
- Pengayak
- Timbangan
- *Rotary evaporator*

**b. Bahan**

- Kulit batang *Z mauritiana*
- Etanol 96%
- Vitamin C
- Aquadest
- CMC-Na 0.5%

**c. Hewan uji**

Mencit galur Balb/C berjenis kelamin jantan, sehat (tidak cacat), yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan antara 25 sampai 30 gram.

**d. Cara Kerja**

- Preparasi Sampel



Sampel kulit batang yang didapatkan selanjutnya dikeringkan terhindar dari sinar matahari langsung. Pembuatan serbuk simplisia dilakukan dengan menggunakan blender dan pengayak.

➤ Ekstraksi

Proses ekstraksi kulit batang *Z. mauritiana* dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk kulit batang *Z. mauritiana* kering ditimbang sebanyak 1kg, kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 96% selama  $\pm$  24 jam yang diikuti dengan pengadukan. Proses penyaringan dilakukan setelah proses ekstraksi selesai. Residu yang ada selanjutnya dimaserasi kembali dengan cara yang sama dengan pengulangan sebanyak dua kali. Filtrat dari masing-masing proses selanjutnya ditampung dalam satu wadah dan diuapkan dengan menggunakan alat rotary evaporator pada suhu 45-50oC. Rendemen ekstrak kemudian dihitung.

➤ Uji aktivitas Anti Stress dengan *Swimming Endurance Test*

- 1) Hewan uji dibagi kedalam 6 kelompok yang masing-masingnya terdiri dari 5 mencit dan terdiri dari kelompok kontrol normal (tidak diberi perlakuan apa-apa), kontrol positif (diberi Vitamin C 100 mg/kg BB) dan kontrol negatif (diberi CMC-Na 0.5%) dan sisanya diberikan ekstrak etanol 96% kulit batang *Z. mauritiana* dengan dosis 200, 400, dan 800 mg/kg BB. Pemberian perlakuan dilakukan selama 7 hari dan 1 jam.
- 2) Setelah pemberian terakhir dilakukan *swimming endurance test* pada keseluruhan kelompok dalam tabung silinder gelas dengan tinggi 31 cm dan berdiameter 9.5 cm yang berisi air pada suhu ruangan sampai ketinggian 20 cm.
- 3) Mencit dibiarkan berenang sampai mencit tenggelam.
- 4) Waktu renang mencit hingga waktu tenggelam diukur.

**e. Analisis data**

Waktu renang mencit hingga tenggelam dianalisis secara statistic dengan uji ANOVA *one way* dan analisis LSD dengan taraf kepercayaan 95%. Data

dinyatakan berbeda bermakna jika memiliki nilai signifikansi lebih kecil dari 0.05 ( $p < 0.05$ )

#### **f. Hasil**

Urutan rata-rata waktu renang mencit dengan durasi paling singkat hingga durasi paling lama adalah:

kontrol normal < kontrol negatif (CMC-Na 0.5 %) < kontrol positif (Vitamin C 100 mg/kg BB) < ekstrak etanol 96% kulit batang *Z. mauritiana* 200 mg/kg BB < ekstrak etanol 96% kulit batang *Z. mauritiana* 400 mg/kg BB < ekstrak etanol 96% kulit batang *Z. mauritiana* 800 mg/kg BB.

#### **g. Kesimpulan**

Ekstrak etanol 96% kulit batang *Z. mauritiana* memiliki aktivitas adaptogenik pada dosis 200, 400, dan 800 mg/kg BB yang mana dosis 800 mg/kg BB diketahui memiliki potensi adaptogenik yang lebih besar secara bermakna dibandingkan dengan dosis 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB. Aktivitas adaptogenik dari ekstrak etanol 96% kulit batang *Z. mauritiana* diduga berasal dari peran beberapa golongan senyawa dan beberapa diantaranya diduga merupakan senyawa golongan triterpenoid dan flavonoid.

### **3. Metode Ptoisis Reserpin**

- **Defenisi**

Ptoisis adalah istilah untuk menggambarkan kelopak mata yang turun, sehingga mata terlihat mengantuk. Ptoisis tidak terasa sakit, namun menandakan adanya gangguan pada otak, saraf, dan rongga mata. Ptoisis bisa terjadi pada satu atau kedua kelopak mata. Dalam kasus yang parah, penurunan kelopak mata dapat menutupi sebagian besar atau seluruh pupil, sehingga penglihatan jadi terbatas atau terhalang sepenuhnya.

Reserpin merupakan obat golongan penghambat alfa adrenergik yang dapat mengobati hipertensi ringan sampai sedang. Reserpine yang digunakan secara

tunggal akan memberikan efek samping yang hebat. Reserpine memiliki efek samping berupa depresi atau stress (sampai bunuh diri) akibat dosis yang terlalu tinggi atau akibat akumulasi dari penggunaan setiap hari untuk jangka waktu yang lama (waktu paruhnya 1-2 minggu)

- **Prinsip**

Obat antihipertensi reserpine menurunkan kadar neurotransmitter dari norepinefrin, 5-HT, dan dopamine dan memperlihatkan gejala klinis pada 15% atau lebih pasien. Lalu ditemukan bahwa halusinogen asam lisergik dietilamin menghalangi reseptor perifer dari serotonin, dan efek halusinogen dari asam lisergik dietilamin memiliki efek yang serupa pada sistem saraf pusat (SSP) reseptor serotonin.

Penyuntikan reserpin dengan dosis tertentu akan menyebabkan efek ptosis pada mencit, yaitu menutupnya sebagian atau seluruhnya dari kedua kelopak mata mencit akibat deflasi/depresi katekolamin biogenik. Obat anti stress yang diberikan kepada hewan uji akan dapat mengantagonis gejala-gejala di atas, atau memproteksi mencit terhadap efek ptosis, dan juga dapat disertai dengan penurunan suhu tubuh mencit.

- **Alat**

- 1) Timbangan
- 2) Termometer
- 3) Sonde
- 4) Stopwatch

- **Bahan**

- 1) Aquadest
- 2) Reserpin

- **Prosedur Kerja**

- 1) Mencit percobaan dikelompokkan menurut dosis bahan uji yang telah direncanakan dan dipuasakan makan 16 jam sebelum percobaan dimulai dengan air minum tetap diberikan secukupnya.

- 2) Pada hari percobaan berat badan mencit ditimbang dan diukur suhu tubuhnya.
- 3) Suntikan reserpin (i.p.) dengan dosis 2.5 mg/kg BB.
- 4) Ukur efek ptosis yang timbul pada mencit setelah dua jam berikutnya.
- 5) Ukur dan catat suhu tubuh mencit.

Catatan:

Pemeriksaan efek ptosis pada mencit ditentukan dengan sistem skor sebagai berikut :

Untuk mata normal (terbuka 100 %) skor = 0

Untuk kelopak mata terbuka 75 % skor = 1

Untuk kelopak mata terbuka 50 % skor = 2

Untuk kelopak mata tertutup 75 % skor = 3

Untuk kelopak mata tertutup 100 % skor = 1

- 6) Setelah selesai pengamatan kepada mencit diberikan sediaan uji secara oral atau i.p. menurut dosis yang sesuai dengan kelompoknya.
- 7) Amati lagi efek ptosis pada mencit tersebut setelah 1; 1.5; 2 jam setelah pemberian sediaan uji dengan metoda skor seperti di atas.
- 8) Hitung persentase proteksi ptosis untuk masing- masing waktu pengamatan menurut rumus berikut :

$$\% \text{ Proteksi} = ((\text{SPr} - \text{SPu}) \times 100 \%) / \text{SPr}$$

SPr	= Skor ptosis kelompok reserpin
SPu	= Skor ptosis kelompok uji

- 9) Analisa efek proteksi suhu dengan membandingkannya dengan kelompok hewan kontrol. Pemberian sediaan uji juga dapat dilakukan secara preventif

test, yaitu diberikan 30 menit atau 15 menit sebelum penyuntikan reserin. Pengamatan juga bisa dilakukan secara *all or non*, dimana untuk efek ptosis diberi tanda (+) sedang yang tidak memberikan efek ptosis diberikan tanda (-).

Evaluasi pada metode ini dilakukan dengan menganalisa data-data pengamatan dari masing-masing kelompok yang dimuat dalam tabel. Sistem skor yang digunakan disini adalah *all or non* dengan pemberian tanda (+) bila ptosis dan tanda (-) bila tidak terjadi ptosis. Proteksi dinyatakan terhadap kelompok yang paling sedikit skor positifnya dibandingkan dengan kelompok kontrol.

- **Hasil**

Dilihat dari hubungan antara dosis, waktu induksi, dan lama tidur. Dari tiap kelompok hewan akan terlihat jumlah yang memberikan efek (+) atau efek (-). Ptosis. Adanya protek positif ditandai dengan kelompok yang memberikan angka paling kecil efek (+) nya.

### **3. Metode Transisi Terang-Gelap**

Metode ketiga yaitu, uji antikecemasan pada mencit (**metode transisi terang-gelap**) untuk mengetahui senyawa yang memiliki efek ansiolitik dengan memanfaatkan kecenderungan mencit untuk mencari tahu lingkungan baru yang ditempatinya. Di dalam kotak yang bagian **pertama dicat hitam** dan bagian **kedua diterangi lampu**. Makin kuat efek ansiolitik senyawa yang diujikan, makin sering mencit berpindah di antara kedua bagian tersebut, makin nyaman mencit dengan kondisi berlawanan tersebut. Pada hari ke tujuh dalam waktu 30 menit sebelum dimasukkan ke dalam kotak transisi gelap-terang, hewan diberikan bahan uji, pembanding, serta vehikulum secara oral pada kelompok pembanding dan kontrol. Pengamatan dilakukan selama 5 dan 10 menit menggunakan monitor.

Tes transisi terang/gelap awalnya dijelaskan oleh Crawley dan Goodwin (1980) didasarkan pada kedua tanggapan permusuhan tikus atau tikus ke area yang

terang benderang dan perilaku eksplorasi spontan dalam situasi seperti itu lingkungan. Dalam tes tersebut, ansiolitik klasik seperti diazepam dan chlordiazepoxide meningkatkan transisi antara dua kompartemen. Berdasarkan laporan terbaru, telah didemonstrasikan menggunakan peralatan terang/gelap dua kompartemen yang dikendalikan komputer yang obat ansiolitik secara signifikan meningkatkan eksplorasi aktivitas di area yang terang atau waktu yang dihabiskan di area yang terang tanpa mengubah transisi antara dua kompartemen. Temuan kontroversial ini mendorong kami untuk merancang transisi terang/gelap baru. Dalam peralatan yang dimodifikasi ini, kami mengukur tiga parameter : % waktu, transisi antara nyala area dan ruang gelap dan aktivitas lokomotor di daerah yang menyala. Meskipun total area kamar gelap adalah seperlima dari total area yang menyala, waktu yang naif tikus kontrol yang dihabiskan di ruang gelap sekitar 50% dari total periode perekaman (3 menit). Ini preferensi tikus yang jelas untuk ruang gelap, ini sangat sesuai dengan data yang dilaporkan oleh kelompok lain menggunakan dua kompartemen terang/gelap aparatus transisi dan menunjukkan kemungkinan sifat permusuhan dari area yang diterangi.

Ansiolitik benzodiazepin, diazepam dan alprazolam, tergantung dosis meningkatkan semua parameter direkam selama periode pengujian 3 menit, sedangkan obat antipsikotik sulpiride, imipramine antidepresan dan obat antikolinergik skopolamin tidak mengubah mereka secara signifikan. Hasil ini adalah konsisten dengan laporan sebelumnya dan menimbulkan kemungkinan bahwa parameter yang diukur dalam peralatan transisi terang/gelap yang dimodifikasi diubah secara sensitif oleh obat-obatan yang memengaruhi kecemasan. Lebih-lebih lagi, fakta bahwa flumazenil, benzodiazepin selektif antagonis reseptor, memblokir efek yang diinduksi diazepam perubahan parameter ini menunjukkan keterlibatan reseptor benzodiazepin di anxiolytic-like efek diazepam.

Beta-CCE, agonis benzodiazepin terbalik, dan picrotoxin, GABA, saluran reseptor-klorida blocker, dilaporkan menghasilkan aksi anxiogenic di model hewan kecemasan. Dalam pengujian ini, perubahan parameter (% waktu, transisi, dan aktivitas lokomotor) yang disebabkan oleh kedua obat ini kontras nyata dengan

yang diinduksi oleh benzodiazepin ansiolitik. Dengan demikian, hasil ini menunjukkan bahwa penurunan dan peningkatan semua parameter mewakili keadaan anxiogenic dan anxiolytic, masing-masing, dari tikus ditempatkan di peralatan transisi terang/gelap yang dimodifikasi, dan bahwa parameternya berguna untuk menilai aksi ansiolitik atau anxiogenic dari zat uji.

#### **A. Hewan**

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian adalah **mencit jantan Swiss Webster** dengan bobot berkisar antara 25-38 g yang diperoleh dari laboratorium perhewan, Departemen Biologi, Institut Teknologi Bandung. Sebelum percobaan mencit diadaptasikan selama satu minggu, ditimbang bobotnya, serta diamati tingkah lakunya. Hewan yang digunakan untuk percobaan adalah hewan yang sehat, yaitu bebas dari gejala-gejala sakit dan bobot tubuh tidak kurang dari 10% bobot awal.

#### **B. Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan yaitu ;

- Timbangan hewan,
- Kandang hewan,
- Jarum suntik oral untuk mencit,
- Jarum dan alat suntik 1 mL,
- *Stopwatch*,
- Lampu,
- Bejana pengamatan,
- Timbangan,
- Gunting,
- Lampu duduk,
- *Video recorder*,
- Monitor,
- Sebuah kotak kayu dengan ukuran 48 x 24 x 27 cm dan dua buah kotak dengan ukuran 130 x 22 x 20 cm,

- Alat pengukur kadar glukosa,
- Strip pengukur kadar glukosa,
- Dan *burner*.

Bahan yang digunakan yaitu :

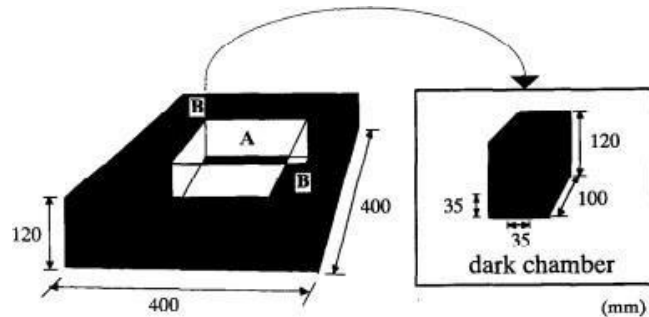
- NaCl fisiologis,
- Minyak biji pala,
- Minyak kelapa murni,
- Natrium tiopental,
- Diazepam suspensi,
- Air suling,
- Air hasil dua kali penyulingan.

### C. Prosedur Pengujian

1. Hewan percobaan dibagi ke dalam enam kelompok, yaitu :
  - ❖ **Kelompok 1:** Kelompok normal yang tidak diinduksi stres namun diberikan **minyak kelapa**,
  - ❖ **Kelompok 2 :** Kelompok kontrol yang diinduksi stres dan diberikan **minyak kelapa**,
  - ❖ **Kelompok 3 :** Kelompok yang diberi pembanding **diazepam** 0,65 mg/kg berat badan,
  - ❖ **Kelompok 4 :** Kelompok yang diberi **minyak biji pala** 7,80  $\mu\text{L}/\text{kg}$  berat badan,
  - ❖ **Kelompok 5 :** Kelompok yang diberi **minyak biji pala** 16,90  $\mu\text{L}/\text{kg}$  berat badan, dan
  - ❖ **Kelompok 6 :** Kelompok yang diberi **minyak biji pala dalam minyak kelapa** (0,40 g/mL)
2. Semua kelompok uji diinduksi stress dengan menggunakan bahan penginduksi yang berbeda dan diberikan dengan cara inhalasi aromaterapi pagi dan sore masing-masing selama dua jam.



3. Pada hari ke tujuh, dalam waktu **30 menit sebelum dimasukkan** ke dalam kotak transisi gelap-terang.



**Gambar 1.** Struktur peralatan transisi terang/gelap yang dimodifikasi. Dinding bagian dalam (A) dan kegelapan ruang (B) dengan dua lorong masing-masing terbuat dari kaca hitam dan kaca transparan. Lantai (C) terbuat dari kaca plexiglass hitam dan diujarkan menjadi bujur sangkar 10 m. Perekaman dimulai dengan menempatkan tikus di sudut koridor.

4. Kemudian, hewan diberikan bahan uji, pembandingan, serta vehikulum secara oral pada kelompok pembandingan dan kontrol.
5. Pengamatan dilakukan selama 5 dan 10 menit menggunakan monitor.

#### **D. Penentuan Efek Antistress**

Metode Transisi Gelap-Terang merupakan uji antikecemasan pada mencit untuk mengetahui **senyawa yang memiliki efek ansiolitik** dengan memanfaatkan **kecenderungan mencit untuk mencari tahu lingkungan baru yang ditempatinya**. Makin kuat efek ansiolitik senyawa yang diujikan, makin sering mencit berpindah di antara kedua bagian tersebut, makin nyaman mencit dengan kondisi berlawanan tersebut.

## Teknik evaluasi Bioaktivitas kecemasan yang mendahului (Ansietas )

### a. Definisi kecemasan

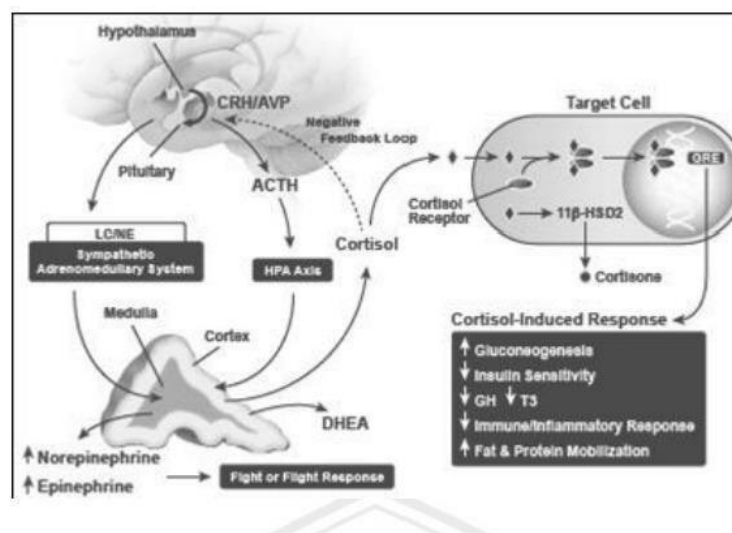
**Kecemasan (ansietas/anxiety)** adalah gangguan alam perasaan yang ditandai dengan perasaan ketakutan atau kekhawatiran yang mendalam dan berkelanjutan, tidak mengalami gangguan dalam menilai realitas, kepribadian masih tetap utuh, perilaku dapat terganggu tetapi masih dalam batas-batas normal.

**Kecemasan** memiliki arti keadaan suasana hati yang ditandai oleh afek negatif dan gejala-gejala ketegangan jasmaniah, dimana seseorang mengantisipasi datangnya bahaya atau kemalangan di masa yang akan datang dengan perasaan khawatir. Kecemasan mungkin melibatkan perasaan, perilaku dan respons-respons fisiologis dan sangat sulit diteliti.

Kecemasan bukanlah suatu **penyakit**, melainkan suatu **gejala**. Kebanyakan orang mengalami kecemasan pada waktu-waktu tertentu dalam kehidupannya. Biasanya, kecemasan muncul sebagai **reaksi normal** terhadap situasi yang sangat menekan dan karena itu berlangsung sebentar saja.

Kecemasan bisa berupa perasaan gelisah yang bersifat subjektif, sejumlah perilaku (tampak khawatir, resah dan gelisah), atau respons fisiologis yang bersumber di otak dan tercermin dalam bentuk denyut jantung yang meningkat dan otot yang menegang

### b. Mekanisme Terjadinya Kecemasan



Ketika seseorang dalam keadaan stress dan tegang secara fisiologis akan mengaktifkan **Limbic Hipotalamus Puitutary Adrenal Axis (LHPA)**, kemudian merangsang hipotalamus dan menyebabkan disekresinya hormon **corticotrophin releasing hormone (CRH)**. Hal tersebut akan menyebabkan peningkatan produksi **Sympathetic Adrenal Medular axis (SAM)**, dengan adanya respon tersebut menyebabkan teraktivasinya **Adeno Cortico Trophin Hormone (ACTH)** yang akan menstimuli produksi hormon kortisol dari korteks adrenal, selain itu akan menyebabkan teraktivasinya neuron andrenergik dari **Locus Ceruleus (LC)**, dimana LC merupakan tempat diproduksi NE yang kemudian akan mensekresikan **epinephrine**. Sistem LC bertanggungjawab untuk merespon langsung terhadap **stresor** dengan “**melawan atau lari/fight or flight**”

### c. Obat – obat Antiansietas (Ansiolitik)

#### 1) Golongan Benzodiazepin (BDZ)

**Mekanisme kerja :** Pengikatan Benzodiazepam pada reseptornya (dengan afinitas tinggi) memacu afinitas reseptor GABA untuk NT yang bersangkutan, sehingga membran sel akan membuka saluran ion Klorida (Cl-) lebih sering dan meningkatkan efek konduksi Cl- . Aliran Cl- yang masuk menyebabkan hiperpolarisasi, menurunkan potensi postsinaptik dan meniadakan pembentukan kerja potensial.

Pada **dosis rendah** akan dapat berguna untuk **menurunkan ansietas**

**Contoh :** Diazepam, Lorazepam, Klordiazepoksid, Klonazepam, Klorazepat dan Alprazolam

#### 2) Golongan Barbiturat

**Mekanisme Kerja :** Mengganggu transport Na<sup>+</sup> dan K<sup>+</sup> melewati membran sel yang mengakibatkan inhibisi aktivitas sistem retikular mesensefalik., Menghambat transmisi polisynaptik SSP dan Meningkatkan fungsi GABA memasukkan Cl<sup>-</sup> ke dalam neuron, walaupun obat tidak terikat dengan reseptor BDZ

Dahulu digunakan sebagai obat tidur dan penenang, namun karena memiliki efek toleransi dan ketergantungan fisik , sudah digantikan dengan golongan benzodiazepin.

Dari durasi kerja terbagi atas :

Kerja panjang : Fenobarbital (1-2 hari)

Kerja singkat : Pentobarbital, Sekobarbital dan Amobarbital (3-8 jam)

Kerja sangat singkat : Tiopental (20 menit)

Barbiturat kerja sangat singkat yang dapat bermanfaat sebagai antiansietas,

### 3) Golongan sedatif non barbitural

Obat – obat yang memiliki efek hipnotik dan sedasi diluar barbiturat. Contohnya : kloralhidrat, antihistamin dan etanol

### 4) Golongan lain – lain

Umumnya bekerja mirip dengan BDZ namun bukan golongan BDZ (misalnya, Buspiron dan Zolpidem) dan ada juga antihistamin Hidroksizin yang digunakan untuk mengobati ansietas pada pasien dengan riwayat penyalahgunaan obat

### d. Diazepam

Merupakan obat ansietas golongan benzodiazepin yang paling banyak digunakan, memiliki struktur seoerti berikut:



**Mekanisme Kerja :** Obat ini bekerja untuk **meningkatkan** aktivitas asam gamma–aminobutirat (**GABA**), yaitu senyawa kimia di otak yang bertugas **menghambat kerja** zat kimia penghantar sinyal saraf (**neurotransmitter**) di otak.

Ikatan diazepam pada reseptor GABA di sistem limbik dan hipotalamus akan **meningkatkan laju ion klorida** ke dalam neuron. Kemudian menimbulkan **hiperpolarisasi** dari membran sehingga **menurunkan eksitabilitas saraf**. Sehingga memiliki Indikasi: **Mengatasi gangguan kecemasan** (antiansietas), meredakan kejang (antikonvulsan), atau sebagai obat pelemas otot (muscle relaxan).

#### **e. Uji Aktivitas**

##### **a) Metode Kenaikan Suhu Tubuh**

**Alat :** Kandang Mencit dan Termometer

**Bahan :** 18 Ekor mencit jantan Albino Swiss (berat 25 – 30 g) dan obat uji (Diazepam)

##### **Cara Kerja:**

1. Kelompok yang terdiri dari 18 ekor mencit jantan albino Swiss dengan berat 25 – 30 g dikandangkan dengan keadaan temperature ruangan konstan dan tekanan udara rata – rata selama 7 hari dalam kandang makrolon untuk beradaptasi terhadap lingkungan.
2. Obat uji atau standar ( diazepam ) , bisa dalam bentuk larutan diberikan secara oral dengan dosis bervariasi pada 18 ekor mencit tersebut.
3. Tiga puluh menit kemudian, 3 ekor mencit dipindahkan dari kandang, dan diukur temperature rectumnya.
4. Nilai rata – rata temperature rektum ketiga ekor mencit dipakai sebagai nilai dasar.
5. Mencit nomor 4 sampai 15 kemudian dipindahkan juga dan dikembalikan lagi ke kandangnya, temperature rectum diukur.
6. Lanjutkan pada 3 ekor mencit terakhir

**Interpretasi Hasil :** Perbedaan nilai rata – rata temperature pada mencit – mencit tersebut dengan nilai dasar / patokan diukur peningkatannya. Peningkatan utama pada kelompok uji dan control dibandingkan dengan menggunakan rumus statistic Anova Biasanya peningkatan suhu tubuh berkisar antara 1,1 – 1,3<sup>0</sup>C.

##### **b) Labirin Plus yang Ditinggikan (elevated plus maze)**

**Alat :** Peralatan labirin plus yang terdiri dari dua lengan terbuka (16 x 5 cm) dan dua lengan tertutup (16 x 5 x 12 cm) yang memiliki atap terbuka dengan labirin plus ditinggikan (25 cm) dari lantai digunakan untuk mengamati perilaku ansiolitik dari hewan.

**Bahan :** mencit jantan Albino Swiss (berat 15 – 30 g) dan obat uji (Diazepam)

##### **Cara Kerja :**

1. Hewan dipuasakan 18 jam sebelum percobaan.

2. Jadwal pemberian dosis diatur sedemikian rupa sehingga setiap tikus mendapat giliran plus labirin setelah 45 menit pemberian dosis. S
3. Setiap hewan ditempatkan di tengah labirin plus yang ditinggikan dengan kepala menghadap ke tangan terbuka.
4. Selama percobaan 5 menit, perilaku tikus dicatat sebagai
  - a) preferensi hewan untuk entri pertama ke lengan terbuka / tertutup
  - b) jumlah entri ke lengan terbuka
  - c) waktu rata-rata yang dihabiskan oleh hewan di lengan terbuka.

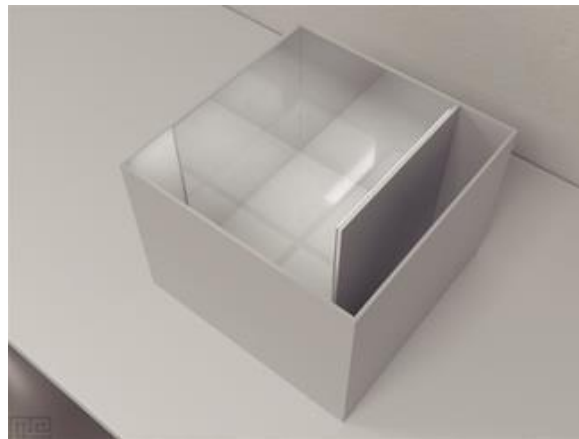
**Interpretasi hasil :** Aktivitas anti-kecemasan dicatat sebagai waktu rata-rata yang dihabiskan oleh hewan di tangan terbuka EPM dan direkam oleh kamera dan dianalisis menggunakan perangkat lunak pelacakan video. Selama seluruh percobaan, setiap hewan diizinkan untuk bersosialisasi. Setiap tindakan pencegahan diambil untuk memastikan bahwa tidak ada rangsangan eksternal yang mengganggu hewan.

**c) Mirror Chamber Test (Uji Ruang Cermin)**

Mirror chamber awalnya dideskripsikan oleh toebas sebagai alternatif peningkatan labirin dan kotak terang gelap. Seperti tes berbasis eksplorasi lainnya dari perilaku terkait kecemasan tikus, ruang cermin diyakini dapat mengukur keadaan, dan kecemasan. Tes ini sangat menarik karena reaksi menjangkau berbagai spesies dan mungkin mewakili aspek kecemasan yang berbeda secara kualitatif daripada tes kecemasan hewan pengerat lainnya. Konsisten dengan ide ini, houri membandingkan mirror dan non mirror pada uji tangga dan menyimpulkan bahwa mirror meningkatkan magnitude response terhadap berbagai obat. Mirror chamber awalnya terdiri dari ruang dengan 5 sisi cermin(30 cm /sisi) yang ditempatkan di sisi kotak buram persegi(40,40,30,5 cm), meninggalkan lorong 5 cm di sekitar ruang cermin di semua sisi. Selain itu, satu cermin ditempatkan di seberang bagian sisi yang terbuka pada ruang cermin. Tikus ditempatkan satu per satu di sudut lorong, bagian terjauh dari bagian sisi yang terbuka. Bagian cermin bersifat anxiogenic, sehingga hewan uji yang tidak digunakan sebagai percobaan akan cenderung menolak untuk memasuki mirror chamber. Sementara dalam pengujian dengan diazepam atau dengan obat ansiolitik lainnya akan mengurangi latensi untuk masuk ke dalam mirror chamber. Latensi untuk memasuki mirror chamber

selama percobaan adalah 30 menit. Namun kelompok berikutnya frekuensi masuk ke dalam chamber dan waktu yang dihabiskan termasuk dalam variabel dan durasi diperpendek dari percobaan menjadi 5-10 menit.

Kelemahan pada mirror chamber adalah ketidakmampuan untuk merekam aktivitas lokomotor secara akurat pada seluruh apparatus dan rendahnya persentase waktu yang dihabiskan tikus dalam mirror chamber. Namun, kemunculan mirror chamber tampaknya cocok sebagai anxiety animal model untuk mendeteksi kecemasan hewan efek ansiolitik.



**Alat :** Alat Ruang cermin terdiri dari ruang kayu (40x40x30.5 cm) yang di dalamnya terdapat cermin (30x30x30 cm). Penempatan kubus cermin ke tengah wadah membentuk koridor 5 cm yang sepenuhnya mengelilingi ruang cermin.

**Bahan :** mencit jantan Albino Swiss (berat 15 – 30 g) dan obat uji (Diazepam)

**Cara Kerja :**

Hewan-hewan ditempatkan secara individual ke dalam kamar cermin di sudut tetap.

Selama percobaan 5 menit parameter berikut dicatat

- a) latensi untuk memasuki ruang cermin
- b) jumlah entri ke dalam ruang cermin
- c) total waktu yang dihabiskan di ruang cermin.
- d) Hole-Board Test (Tes Papan Lubang)

**Alat :** Peralatan papan lubang terdiri dari kotak kayu (40 × 40 × 25 cm) dengan 16 lubang (masing-masing berdiameter 3 cm) didistribusikan secara merata di dasar kotak.

**Bahan :** mencit jantan Albino Swiss (berat 15 – 30 g) dan obat uji (Diazepam)

**Cara Kerja:**

Alat diangkat setinggi 25 cm. Jumlah head dip dan waktu head dipping selama periode 5 menit dicatat

**e) Uji Lapangan Terbuka (OFT)**

**Definisi dan Uraian:** Tes lapangan terbuka pertama kali dikembangkan oleh Hall 1934 untuk menilai emosi tikus. Uji lapangan terbuka digunakan untuk memberikan pengukuran kualitatif dan kuantitatif aktivitas eksplorasi dan lokomotor pada hewan pengerat. Tes Lapangan Terbuka adalah tes sensorimotor sederhana yang digunakan untuk menentukan tingkat aktivitas umum, aktivitas lokomotor kasar, dan kebiasaan eksplorasi pada model hewan pengerat gangguan SSP. Tes ini melibatkan hewan ke lingkungan baru yang tidak diketahui dan tikus tidak diperbolehkan untuk melarikan diri karena terdapat dinding sekitarnya. Tikus biasanya dipuaskan selama 24 jam sampai 48 jam sebelum pengujian. Jika hewan tidak makan, tikus mengalami gangguan emosional. Secara umum, tikus yang "emosional" ditemukan memiliki lebih sedikit masuk ke bagian tengah arena dan memiliki tingkat buang air besar yang lebih tinggi. Di tahun-tahun berikutnya, tes lapangan terbuka menjadi sangat populer dalam psikologi hewan, dengan banyak modifikasi (berbeda) bentuk lingkungan, intensitas/warna pencahayaan, objek lain dalam arena, dll.) dibuat dengan desain aslinya, tergantung pada pengamatan.

Telah ditunjukkan bahwa pemberian ansiolitik meningkatkan waktu eksplorasi di tengah lapangan terbuka sementara rangsangan stres menurunkan jumlah tikus ke pusat kotak. Aktivitas lapangan terbuka mewakili ukuran yang valid dari perubahan yang ditandai dalam perilaku seperti kecemasan pada hewan yang diobati dengan obat dan hewan yang dimanipulasi secara genetik. Prosedur lapangan terbuka juga dapat digunakan untuk penilaian umum aktivitas dan eksplorasi lokomotor basal hewan. Dalam kasus ini, kondisi non-stres diperlukan (pembiasaan, kondisi pencahayaan rendah) dan durasi eksperimen bisa lebih lama.



**Alat :**

1. Peralatan lapangan terbuka terdiri dari kaca fleksibel bening (lebar 72 cm x 72 cm, tinggi 36 cm) dengan lantai formika putih.
2. Lantai dibagi menjadi 16 kotak dengan ukuran yang sama (18 cm x 18 cm) menggunakan spidol merah. Bujur sangkar digambar menggunakan spidol biru yang merupakan perpotongan dari empat bujur sangkar yang berdekatan.
3. Kaca yang digunakan transparan sehingga hewan dan daerah pusat dapat dilihat dari samping. Daerah pusat lebih disukai untuk memulai pengujian, karena memiliki jarak yang luas dari dinding sekitarnya sehingga perilaku beberapa hewan dapat diamati.
4. Dimensi ruang pengujian biasanya 1,8 m x 4,6 m dan diterangi dengan lampu merah 60 watt. Sebuah kamera video yang terhubung ke layar komputer ditempatkan 2 m di atas peralatan

M. Hesse et al. Analytic Testing of Medicinal Plants in Nigeria: Frequently Used Experimental Models

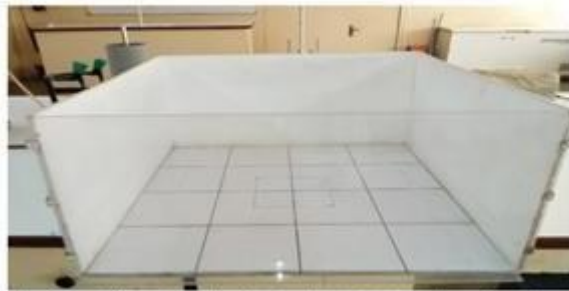


Plate 1: Picture of an open field apparatus taken from pharmacology laboratory, Department of Pharmacology and Therapeutics, Bayer University, Kano.

**Bahan :** Tween 80, Normal Salin, Diazepam, Ekstrak Tunbuhan dan Mencit 48

**Cara kerja:**

1. Aktivitas lokomotor hewan dinilai oleh ruang plexiglass (40 × 40 × 40 cm) di ruangan yang tenang dan terang.
2. Empat puluh delapan hewan secara acak dibagi menjadi kelompok-kelompok berikut dari 6 tikus di masing-masing:
  - Kelompok I: Kelompok kontrol (Tween 80+normal saline);
  - Kelompok II-V: ekstrak tumbuhan (12,5, 25, 50 dan, 100 mg/kg);
  - Kelompok VI: Diazepam 2 mg/kg;
  - Kelompok VII: fluoxetine 10 mg/kg;
  - Kelompok VIII: imipramine 10 mg/kg.

3. Tiga puluh menit setelah satu i.p. dosis senyawa uji, mereka ditempatkan secara individual di tengah ruangan dan selama 5 menit,

**Interpretasi Hasil :** jumlah kotak yang disilangkan dengan empat kaki hewan sebagai aktivitas lokomotifnya direkam dengan menggunakan kamera digital. Semua video dinilai oleh perangkat lunak Ethovision XT (The Netherlands)

**f) Metode Transisi Terang gelap**

**Alat :** Dua Kotak kayu ukuran 130 x 22 x30, lampu duduk, monitor dan alat perekam video

**Bahan :** hewan uji mencit, NaCl Fisiologis, air suling diazepam dan ekstrak tumbuhan

**Cara Kerja :**

untuk mengetahui senyawa yang memiliki efek ansiolitik dengan memanfaatkan kecenderungan mencit untuk mencari tahu lingkungan baru yang ditempatinya. Di dalam kotak yang bagian pertama dicat hitam dan bagian kedua diterangi lampu. Pada hari ke tujuh dalam waktu 30 menit sebelum dimasukkan ke dalam kotak transisi gelap-terang, hewan diberikan bahan uji, pembanding, serta vehikulum secara oral pada kelompok pembanding dan kontrol. Pengamatan dilakukan selama 5 dan 10 menit menggunakan monitor. Hewan percobaan dibagi ke dalam enam kelompok yaitu:

- 1) kelompok normal yang tidak diinduksi stres namun diberikan minyak kelapa
- 2) kelompok kontrol yang diinduksi stres dan diberikan minyak kelapa,
- 3) kelompok yang diberi pembanding diazepam 0,65 mg/kg berat badan,
- 4) kelompok yang diberi minyak biji pala 7,80  $\mu$ L/kg berat badan,
- 5) kelompok yang diberi minyak biji pala 16,90  $\mu$ L/kg berat badan, dan
- 6) kelompok yang diberi minyak biji pala dalam minyak kelapa (0,40 g/mL) dengan cara inhalasi aromaterapi pagi dan sore masing-masing selama dua jam.

**Interpretasi Hasil :** Makin kuat efek ansiolitik senyawa yang diujikan, makin sering mencit berpindah di antara kedua bagian tersebut, makin nyaman mencit dengan kondisi berlawanan tersebut.

**g) Tes Interaksi Sosial**

**Alat :** Kandang tikus, lampu duduk, monitor dan alat perekam video

**Bahan :** Pasangan tikus dengan berat badan serupa, diazepam

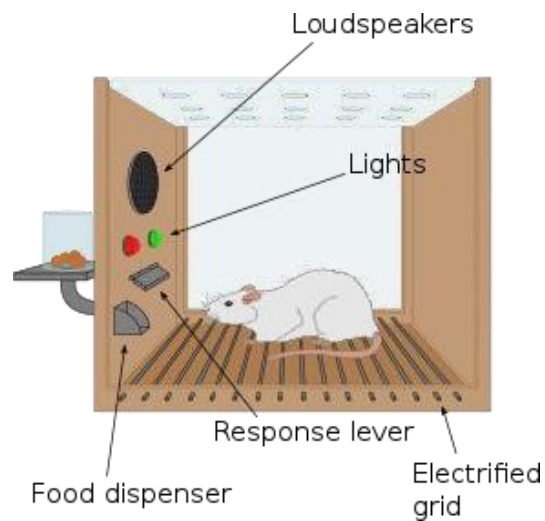
**Cara Kerja:**

1. Menempatkan tikus di lingkungan yang tidak dikenal, dimana sifat, lokasi, dan waktu kejadian berbahaya tidak diketahui serta diberi manipulasi intensitas cahaya
2. Melakukan evaluasi interaksi pasangan tikus selama 10 menit menggunakan monito video
3. Mengamati interaksi sosial antara pasangan tikus
4. Tingkah laku yang dinilai dan tergolong dalam interaksi sosial aktif adalah mengendus, menendang, melompat, menggeliat, memukul, dan merangkak dibawah atau diatas pasangan. Sedangkan interaksi pasif berupa kontak tiubuh yang dinilai secara terpisah ketika tikus sedang duduk atau berbaring dengan tubuh mereka yang bersentuhan, tetapi tanpa berinteraksi dengan satu sama lain.
5. Berikan perlakuan yang sama pada kelompok tikus lain yang sudah diberikan kelompok obat seperti diazepam

**Interpretasi hasil:**

- Tikus memiliki keengganan untuk berada di daerah terang benderang, sehingga dengan manipulasi tingkat cahaya akan menyebabkan perubahan keadaan internal tikus yang akan serupa dengan yang dihasilkan pada manusia.
- Lamanya waktu yang dihabiskan pasangan tikus dalam interaksi sosial aktif di lingkungan yang akrab dengan intensitas cahaya rendah terjadi peningkatan
- Ketika intensitas pencahayaan meningkat dan tikus di tempatkan dilingkungan yang asing, interaksi sosial aktif mengalam penurunan/berkurang
- Tikus yang diberikan obat antidepresan (diazepam) akan memperlihatkan respon 30-60% diatas respon kontrol atau kira-kira mendekati dua kali lipat respon kontrol

**h). Vogel Conflict Test**



**Alat:** cerat botol, sengatan listrik

**Bahan:** tikus jantan, air

**Cara kerja:**

1. Sebelum memulai, hewan uji harus diaklimatisasi dengan kandang dan pakan pelet
2. Tikus jantan dipuaskan atau dibiarkan kekurangan air selama 48 jam dan selama periode pengujian 3 menit diberikan air minum yang diberikan sengatan listrik ringan melalui cerat botol setiap 20 kali jilatan
3. Hewan uji akan diberi hadiah atau hukuman karena menarik tuas atau menekan tombol

Interpretasi Hasil:

- Peningkatan jumlah sengatan yang diinduksikan menunjukkan sifat ansiolitik. Sifat ansiolitik ditunjukkan ketika obat secara selektif meningkatkan respon ketika tikus mendapatkan hukuman

#### **i) Four Plate Test**

**Definisi dan Uraian:**

Pada tahun 1966, tes penyeberangan pelat logam diperkenalkan oleh Slotnick dan Jarvik sebagai cara untuk mengukur penghindaran pasif pada hewan. Peralatan terdiri dari sebuah kotak dengan lantai yang terdiri dari empat pelat logam. Prosedur pengujian melibatkan tikus yang ditempatkan ke salah satu pelat lantai. Tikus kemudian diberikan waktu eksplorasi selama 15 detik. Selama 60 detik

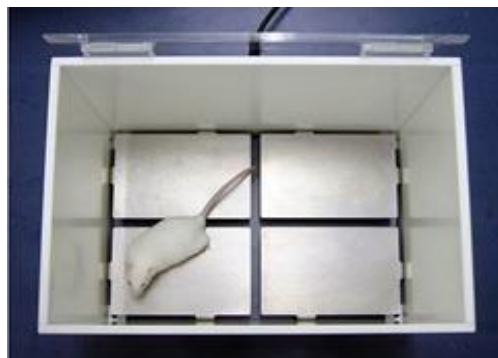
berikutnya berapa kali tikus melintas dari satu piring ke piring lainnya dengan semua 4 kaki dicatat. Dalam rangka menilai efek obat pada penghindaran pasif melalui uji empat pelat (FPT), Boissier dkk. (1968) mencatat bahwa obat yang digunakan untuk mengurangi kecemasan juga mengurangi penghindaran pasif. Pengamatan ini menjadi relevan untuk mempelajari kecemasan karena peningkatan lokomotor komponen eksplorasi dapat diartikan sebagai respon terhadap lingkungan baru.

### **Prinsip**

Tes ini pada dasarnya menempatkan hewan ke dalam ruang persegi, lantai yang terdiri dari empat pelat logam yang terhubung ke sumber arus kejutan listrik ringan. Setelah proses habituasi, hewan mengalami sengatan listrik saat melintasi (transisi) dari satu lempeng ke lempeng lainnya, yang membatasi hewan untuk berpindah (penyeberangan). Jumlah penyeberangan yang dinilai umumnya dihitung untuk jangka waktu 60 detik. Zat dengan sifat ansiolitik membangun kembali perilaku eksplorasi hewan yang dimanifestasikan oleh peningkatan jumlah penyeberangan.

### **Apparatus Uji 4 Lempeng (Four Plate Test)**

1. Sangkar (18 cm 25 cm 16) dengan lantai berupa empat pelat logam persegi panjang yang identik (8 cm 11 cm) yang dipisahkan satu sama lain dengan celah 4 mm.
2. Pelat terhubung ke perangkat yang menghasilkan listrik guncangan (0,6 mA, 0,5 detik).



### **Metode Pengujian**

1. Ditimbang berat badan tikus.
2. Hewan ditempatkan di kandang dengan jumlah 18 ekor/kandang (40 cm x 28 cm x 17 cm) pada suhu konstan 200C dengan cahaya standar.
3. Hewan diberi akses makan dan minum

4. Mengelompokkan mencit/tikus untuk uji (contoh)
  - a. Kelompok 1: Mencit hanya diberikan pelarut/pembawa berupa tween 80 5% sebagai control negative
  - b. Kelompok 2-4: Mencit diberikan larutan obat prozasin, idazoxane, alprazolam dengan yang dilarutkan dalam Tween 80 5% sebagai pembanding
  - c. Kelompok 5: Mencit diberikan larutan obat Milnacipran yang dilarutkan dalam Tween 80 5% sebagai sampel uji
5. Masukkan hewan ke alat uji, biarkan hewan berhabituasi selama 15 menit. Amati perilaku hewan
6. Hewan uji diberikan induksi listrik ringan dari platoh pedal kaki ketika menyebrangi dari satu lempeng ke lempeng lain
7. Jumlah mencit menyebrangi tiap lempeng diamati selama 1 menit **Parameter:** Jumlah mencit menyebrangi dari satu lempeng ke lempeng lain **Interpretasi:** Zat dengan sifat ansiolitik meningkatkan perilaku eksplorasi hewanyang dimanifestasikan oleh peningkatan jumlah penyeberangan.

#### **Kelebihan dan Kekurangan Four-Plate Test**

##### **A. Kelebihan**

1. Pengujian singkat dan cepat
2. Tidak perlu melakukan intervensi makanan/minuman atau puasa
3. Uji berdasarkan intervensi arus listrik

##### **B. Kelemahan**

1. Kemungkinan munculnya hasil positif palsu
2. Melibatkan stimulus stress berupa shock listrik pada telapak kaki (footshock)
3. Dipengaruhi oleh perubahan non-spesifik pada kognisi dan nosiseptik

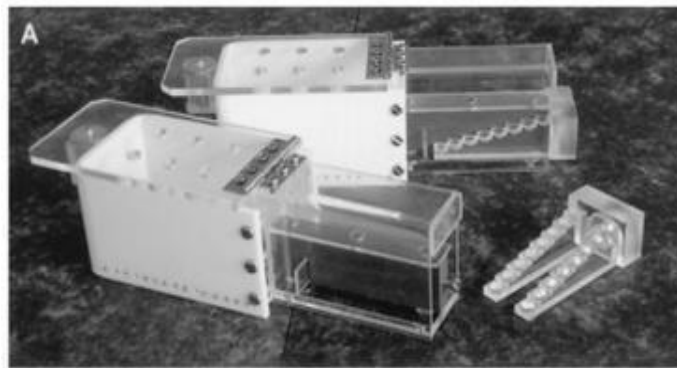
#### **j) Staircase Test**

Staircase test dikembangkan oleh Thiebot berdasarkan pada prosedur yang awalnya diusulkan oleh Molinengo dan Ricci-Gamalero. Dalam formulasi awal tes ini, seekor tikus ditempatkan di dalam tangga tertutup dan frekuensi tangga didaki (misalnya, tangga dapat didaki lebih dari satu kali) dan tanggapan pemeliharaan dicatat. Pada 1980-an Simiand mengadaptasi uji tangga untuk digunakan dengan tikus. Sejak itu waktu, penggunaan model mouse dalam tes ini telah menjadi

dominan dalam literatur yang diterbitkan. Agen ansiolitik diharapkan menyebabkan penurunan aktivitas pemeliharaan saat merangsang atau tidak berpengaruh pada naik tangga. Pendakian dikaitkan dengan aktivitas eksplorasi atau lokomotor, respons lokomotor adalah ekspresi kecemasan di mana aktivitas melarikan diri mendominasi. Keunggulan dari tes ini adalah memiliki fitur praktis, sederhana, cepat dilakukan, ekonomis, dan cukup selektif untuk obat ansiolitik, tidak menuntut sebelumnya penanganan hewan, juga tidak melibatkan pelatihan ke berbagai tingkat kinerja, kekurangan makanan, atau pembiasaan, semua yang dapat menjadi batasan dalam protokol pengujian ansiolitik lainnya.

**Prinsip :** Menempatkan tikus di tangga tertutup dengan lima langkah dan mengamati jumlah anak tangga yang dinaiki dan pemeliharaan yang dilakukan dalam waktu 3 menit.

**Alat :** Selungkup PVC putih dengan tangga lima langkah, ditempatkan di sebuah ruangan dengan pencahayaan konstan, terisolasi dari kebisingan eksternal, dan dikontrol secara termostatik ( $21 \pm 2 \sim C$ ).



**Bahan :** Tikus jantan naif, obat ansiolitik, pelarut (NaCl)

**Cara Kerja :**

1. Hewan sebelumnya diaklimatisasi minimal 4 hari dalam kondisi standar suhu, pencahayaan dan ventilasi, dengan makanan dan air bebas tersedia dan dipindahkan ke lab 1 jam sebelum tes.
2. Hewan dibagi menjadi 3 kelompok, normal, kontrol, dan diberikan obat ansiolitik.

3. Hewan kelompok kontrol diberikan pelarut, hewan kelompok diberi obat ansiolitik sesuai dosis, dan hewan kelompok normal tidak diberikan apapun.
4. Hewan ditempatkan sendirian di lantai kotak dengan punggung menghadap ke tangga. Jumlah langkah naik dan jumlah punggung dihitung selama 3-hujan Titik. Sebuah langkah dianggap didaki hanya jika tikus telah menempatkan keempat cakarannya di anak tangga. Jumlah langkah turun tidak diperhitungkan, untuk menyederhanakan pengamatan.
5. Setelah setiap hewan diuji, kotak itu dibersihkan dengan cepat untuk menghilangkan isyarat penciuman yang mungkin mengubah perilaku hewan berikutnya.



## TEKNIK EVALUASI BIOAKTIVITAS ANALGETIK

### I. PENGERTIAN ANALGETIKA

Analgetika adalah golongan obat-obatan yang memiliki aktivitas menekan atau mengurangi rasa nyeri. Efek ini dapat dicapai dengan berbagai cara, seperti menekan kepekaan reseptor terhadap rangsang nyeri mekanik, termik listrik, atau kimiawi di pusat atau dengan cara menghambat pembentukan prostaglandin sebagai mediator sensasi nyeri. Obat ini dapat digunakan untuk menghilangkan rasa nyeri tanpa menghilangkan kesadaran (Tjay dan Rahardja, 2002).

Rasa nyeri dapat dilawan dengan beberapa cara yakni dengan:

- (1) merintang pembentukan rangsangan dalam reseptor-reseptor nyeri perifer oleh analgetika perifer atau oleh anestetika lokal,
- (2) merintang penyaluran rangsangan nyeri dalam saraf-saraf sensoris, misalnya dengan anestetika lokal,
- (3) blokade dari pusat nyeri dalam sistem saraf sentral dengan analgetika sentral (narkotika) atau dengan anestetika umum (Tjay dan Raharja, 2002).

Menurut Roach, S. S. (2004), obat yang digunakan dalam mengatasi nyeri terdiri dari dua kelompok yaitu analgetika non-narkotik dan analgetika narkotik.

#### 1. Analgetika Non-Narkotik

Obat-obat ini meringankan rasa nyeri tanpa menurunkan kesadaran dan tidak menyebabkan ketergantungan seperti penggunaan analgetika narkotik. Analgetika non-narkotik terdiri dari senyawa golongan salisilat, non-salisilat (seperti asetaminophen), dan nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). Obat ini digunakan untuk mengatasi nyeri ringan hingga sedang (Roach, S. S., 2004).

**Mekanisme kerja:** bekerja diperifer dengan menghambat pelepasan mediator sehingga aktifitas enzim siklooksigenase terhambat dan sintesa prostaglandin tidak terjadi Obat NSAID memblok aksi dari enzim COX yang menurunkan produksi mediator prostaglandin, dimana hal ini menghasilkan kedua efek yakni baik yang positif (analgesia, antiinflamasi) maupun yang negatif (ulkus lambung, penurunan perfusi renal dan perdarahan). Aktifitas COX dihubungkan dengan dua isoenzim, yaitu ubiquitously dan constitutive yang diekspresikan sebagai COX-1 dan yang diinduksikan inflamasi COX-2.

COX-1 terutama terdapat pada mukosa lambung, perenkim ginjal dan platelet. Enzim ini penting dalam proses homeostatik seperti agregasi platelet, keutuhan mukosa gastrointestinal dan fungsi ginjal. Sebaliknya, COX-2 bersifat inducible dan diekspresikan terutama terdapat pada tempat trauma (otak dan ginjal) dan menimbulkan inflamasi, demam, nyeri dan kardiogenesis.

**Contoh obat** : asetaminofen , asam mefenamat, na-diklorofenak, etodolak, fenoprofen, ibuprofen, ketoprofen, ketorelak, meklofenamat, metotrimoprazin, naproksen, fenazopiridin salisilat, aspirin, kolin, dan magnesium salisilat, kolin salisilat, salisilat.

## 2. Analgetika Narkotik

Analgetik narkotik disebut juga opioida, adalah zat yang bekerja terhadap reseptor opioid khas di sistem saraf pusat, hingga persepsi nyeri dan respons emosional terhadap nyeri berkurang (Tjay dan Rahardja, 2002).

Analgetika kuat diindikasikan pada kondisi nyeri yang sangat kuat. Di sini terutama nyeri akibat kecelakaan, nyeri karena operasi, dan nyeri tumor (Mutschler, 1999).

**Mekanisme kerja**: bekerja di sentral dengan cara menempati reseptor di kornu dorsalis medulla spinalis sehingga terjadi penghambatan pelepasan transmitter dan perangsangan ke saraf spinal tidak terjadi.

### **Contoh obat** :

#### **a.** Agonis Opioid

Alfentanil, kodein, fentanyl, fentanyl transdermal, hidrokodon, hidromorfon, levorfanol, meperidin, metadon, morfin, oksikodon, oksimorfon, propofol, sufentanil.

#### **b.** Antagonis Opioid

Buprenorfin, butorfanol, dezosin, nalbufin, pentazosin.

## II. METODE PENGUJIAN DAYA ANALGESIK

Pengujian daya analgesik dapat menggunakan berbagai metode. Menurut Turner (1965) metode pengujian daya analgesik berdasarkan jenis analgesiknya ada dua golongan, yaitu golongan analgesik narkotika dan analgesik non narkotika. Metode-metode pengujian aktivitas analgesik dilakukan dengan menilai

kemampuan zat uji untuk menekan atau menghilangkan rasa nyeri yang diinduksi pada hewan uji (mencit, tikus, marmot) (Anonim, 1991).

## 1. Golongan Analgesik Narkotika

### a. Sigmund Test

Obat uji dinilai kemampuannya dalam menekan atau menghilangkan rasa nyeri yang diinduksi secara kimia (pemberian fenil butazon atau asam asetat) pada hewan percobaan mencit. Rasa nyeri diperlihatkan oleh mencit dalam bentuk respon gerakan geliatan. Frekuensi gerakan ini dalam waktu tertentu menyatakan derajat nyeri yang dirasakan oleh hewan percobaan.

- Bahan : Fenil p-benzokuinon, diberikan 0.25 mg/ekor, atau asam asetat, obat pembanding (asetosal)
- Alat : Kandang pengamatan (terbuat dari kaca sehingga mudah diamati), atau alat Sigmund Test yang dilengkapi dengan mesing penghitung., Alat penghitung, Stopwatch, timbangan mencit, alat suntuk i.p. dan oral.
- Prosedur

Mencit yang telah terseleksi dan dikelompokkan untuk masing-masing dosis bahan uji, dipuaskan makan selama 16 jam, kemudian ditimbang dan diberikan sediaan uji dengan volume 1% berat badan (i.p.) atau oral. Seperempat atau setengah jam kemudian kepada mencit diberikan larutan fenil p- benzokuinon 0.02 % sebanyak 0.25 ml/ekor, kemudian mencit diletakan di dalam kandang pengamatan yang terbuat dari kaca.

Asam asetat merupakan zat nyeri yang potensinya kecil karena mengandung ion hidrogen. Adanya ion hidrogen dapat menurunkan nilai pH dibawah 6, sehingga menyebabkan rasa nyeri yang meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ion hidrogen (Mutschler, 1991). Asam asetat ini dapat menyebabkan kerusakan jaringan atau gangguan metabolisme jaringan jika disuntikkan dibawah kulit, dimana adanya jaringan yang rusak menyebabkan sel-sel membebaskan mediator nyeri yang dapat merangsang reseptor nyeri (Guyton, 2007). Nyeri yang dirasakan oleh hewan uji dengan induksi asam asetat diinterpretasikan dalam bentuk geliat.

Parameter yang diamati berupa jumlah geliatan yang ditunjukkan oleh setiap mencit dalam setiap 5 menit selama 30 menit. Pengamatan dimuali 10 menit setelah pemberian bahan penginduksi nyeri. Aktivitas analgetik diperlihatkan dengan penekanan jumlah geliatan dari mencit yang menerima dosis sediaan uji dibandingkan dengan kelompok kontrol yang besarnya lebih dari 50%.

b. Metode Rangsang Panas

Metode ini dilakukan dengan cara meletakkan mencit yang telah diberi senyawa uji di atas pelat panas (hot plate) yang bersuhu 550 -55,50 C. Respon yang diamati yaitu ketika hewan uji mengangkat, menjilat telapak kakinya dan kemudian melompat dari lempeng panas (Turner, 1965).

- Bahan : Ponstan 100 mg/kg, morfin 10 mg/kg
- Alat : Plat panas 550C, yang dilengkapi termostat, jarum suntik dsb
- Prosedur

Mencit yang telah terseleksi dan dikelompokkan untuk masing-masing dosis bahan uji, dipuaskan makan selama 16 jam ditimbang, diletakkan di atas plat panas, kemudian diamati reaksi berupa mengangkat atau menjilat kaki depan pada 10 atau 5 menit sebelum pemberian sediaan uji. Kemudian kepada mencit diberikan sediaan uji dengan volume 1% berat badan (i.p.) atau oral. Seperempat atau setengah jam kemudian setiap mencit dilakukan pula percobaan plat panas yaitu dengan meletakkannya diatas plat pana 55<sup>0</sup>C.

Amati waktu terjadinya reaksi melompat atau menjilat kaki depan dari mencit pada 10, 20, 30, 45, 60 dan 90 menit setelah perlakuan. Waktu reaksi adalah waktu dari saat hewan diletakkan di atas plat panas 55<sup>0</sup>C sampai tepat memberikan respon (kaki depan diangkat atau dijilat). Waktu reaksi dari tiap tahap pengamatan dan tiap hewan di catat, ditabulasikan dan dibahas.

- Evaluasi

Respon analgetik dinyatakan positif jika waktu reaksi setelah pemberian sediaan uji lebih besar dari 30 detik yang terjadi paling sedikitnya satu kali, atau apabila paling sedikitnya tiga kali pembacaan

memperlihatkan waktu reaksi sama dengan atau lebih besar dari tiga kali waktu normal.(waktu sebelum pemberian sediaan uji)

c. Analgetik untuk Nyeri Sendi

Nyeri sendi pada hewan percobaan dapat diinduksi dengan penyuntikan intra artikular dari larutan AgNO<sub>3</sub> 1 %.

- Prosedur

Tiap hewan disuntikan larutan AgNO<sub>3</sub> 1 % sebanyak 0.2 ml ke dalam “tibiotalarsienne”. Delapan belas jam kemudian, hewan yang mencicit karena kesakitan bila dilakukan gerakan fleksi terkadap sendiyang bengkak sebanyak tiga kali berulang dengan interval 10 detik adalah hewan yang dapat digunakan dalam percobaan ini. Hewan yang telah terseleksi dan dikelompokkan untuk masing-masing dosis bahan uji, dipuaskan makan selama 16 jam ditimbang dan dikelompokkan sesuai dengan dosi sediaan uji yang direncanakan sebelumnya. Kemudian diberikan sediaan uji secara oral atau i.p. demikian juga kelompok pembanding dan kelompok kontrol. Kemudian diamati reaksi fleksi pada setiap hewan pada 30 menit, 1 jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam, 5 jam dan 6 jam setelah pemberian sediaan uji.

Sediaan uji dapat dikatakan bersifat analgetik untuk nyeri sendi, bila hewan tidak mencicit kesakitan oleh gerakan fleksi yang dipaksakan pada waktu-waktu tertentu setelah pemberian sediaan uji.

Sebagai dosis aktif-50 adalah dosis sediaan uji yang menekan mencicitnya hewan yang kesakitan sebanyak 50% dari hewan uji dalam kelompoknya yang dapat dihitung dengan analisa probit.

Saat hewan mengalami analgesia dan lamanya berlangsung analgesia untuk setiap dosis sediaan uji dapat digambarkan sebagai kurva waktu versus dosis.

d. Metode Tail Flick Test (Jentik Ekor)

Metode ini dilakukan dengan cara mencelupkan ekor mencit pada air bertemperatur 580 C, dimulai 15 menit setelah diinjeksikan zat uji secara intraperitoneal. Pencelupan diulang setiap 30 menit. Respon mencit terlihat pada hentakan ekornya untuk menghindari air panas.

Metode Tail Flick Test menggunakan panas sebagai penginduksi nyeri. Rasa nyeri diperlihatkan dalam bentuk respon gerakan menjentikkan ekor oleh mencit tersebut ketika ekor diinduksi panas dengan air pada penangas suhu  $50\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Waktu yang dibutuhkan oleh mencit untuk menjentikkan ekornya kemudian diukur (Goyal et al., 2013).

Pada pengujian dengan metode jentik ekor, hewan diberi induksi nyeri berupa panas pada suhu  $50\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Suhu diatas  $48^{\circ}\text{C}$  dapat menyebabkan perangsangan kuat pada reseptor nyeri sehingga menghasilkan sensasi nyeri yang hebat (Nair dan Peate, 2015). Induksi diberikan sama pada setiap hewan yaitu dengan mencelupkan 3 cm ekor hewan kedalam air panas. Selanjutnya dihitung waktu yang dibutuhkan mencit untuk menjentikkan ekornya pada waktu ke 30, 60, 90 dan 120 menit. Total waktu yang dibutuhkan hewan untuk menjentikkan ekornya pada rentang waktu ke 30, 60, 90 dan 120 menjadi parameter yang dianalisis.

e. Metode Jepitan Ekor

Sekelompok mencit diinjeksi dengan senyawa uji secara subkutan atau intravena. Setelah 30 menit, jepitan dipasang selama 30 detik pada bagian pangkal ekor yang telah dilapisi karet tipis. Respon yang diamati yaitu ada tidaknya usaha dari hewan uji untuk melepaskan diri dari jepitan tersebut. Pada hewan uji yang diberi analgesik akan mengabaikan jepitan tersebut, namun pada hewan yang tidak diberi analgesik akan berusaha untuk melepaskan diri dari jepitan tersebut (Turner, 1965).

f. Metode Pengukuran Tekanan

Alat yang digunakan pada metode ini menggunakan dua buah syringe yang dihubungkan kedua ujungnya, bersifat elastis, fleksibel, serta terdapat pipa plastik yang diisi dengan cairan. Pipa tersebut kemudian dihubungkan dengan manometer. Syringe yang pertama diletakkan dengan posisi vertikal dengan ujungnya menghadap ke atas. Ekor tikus diletakkan di bawah penghisap syringe. Pada saat tekanan diberikan pada penghisap dari syringe kedua, maka tekanan ini akan berhubungan dengan sistem hidrolis pada syringe yang pertama lalu pada ekor hewan uji. Tekanan yang

sama diberikan pada syringe kedua yang dapat meningkatkan tekanan pada ekor hewan uji. Respon yang timbul akan tercatat pada manometer ketika hewan uji meronta-ronta kemudian mengeluarkan suara (mencicit) sebagai tanda kesakitan (Turner, 1965).

g. Metode Potensi Petidin

Metode ini memerlukan hewan uji dalam jumlah banyak. Tiap kelompok hewan uji terdiri dari 20 ekor, setengah kelompok dibagi menjadi tiga bagian yang diberi petidin dengan peringkat dosis yaitu 2, 4, dan 8 mg/kg.

Setengah kelompok yang lain petidin, yang lain, petidin dan senyawa uji dengan dosis 25% dari LD50. Persen daya analgesik dapat dihitung dengan bantuan metode rangsang panas.

h. Metode Antagonis Nalorfin

Metode ini digunakan untuk mengetahui aksi dari obat-obat seperti morfin. Hewan uji yang dapat digunakan pada metode ini yaitu tikus, mencit, dan anjing. Hewan uji diberi obat dengan dosis toksik lalu diikuti pemberian nalorfin (0,5 – 10,0 mg/kg BB) secara intravena.

i. Metode Kejang Oksitosin

Oksitosin merupakan hormon yang dihasilkan oleh kelenjar pituitori posterior, yang dapat menyebabkan kontraksi uterin sehingga menimbulkan kejang pada tikus. Respon berupa kejang tersebut meliputi kontraksi abdominal, sehingga dapat menarik pinggang dan kaki hewan uji ke belakang. Penurunan jumlah kejang dapat diamati dan nilai ED50 dapat diperkirakan.

## 2. Golongan Analgesik Non Narkotika

a. Metode Rektodolorimetri

Pada metode ini hewan uji tikus diletakkan dalam sebuah kandang yang dibuat khusus dengan menggunakan alas tembaga yang kemudian dihubungkan dengan sebuah gulungan yang berfungsi sebagai penginduksi. Ujung lain dari gulungan tersebut dihubungkan dengan silinder elektroda tembaga. Pada gulungan bagian atas terdapat konduktor yang dihubungkan

dengan sebuah volmeter yang sensitif untuk dapat mengubah 0,1 volt. Teriakan mencit dapat timbul dengan pemberian tegangan sebesar 1 sampai 2 volt (Turner, 1965).

b. Metode Podolorimetri

Pengujian daya analgesik menggunakan metode ini dengan memberikan aliran listrik pada kandang yang ditempati hewan uji. Hewan uji diletakkan dalam kandang yang alasnya terbuat dari kepingan metal, sehingga bisa mengalirkan listrik. Respon yang timbul yaitu teriakan dari hewan uji tersebut. Pengukuran dilakukan dengan selang waktu 10 menit selama 1 jam (Turner, 1965).

c. Metode Rangsang Kimia

Pada metode ini digunakan rangsang kimia berupa zat kimia yang diberikan secara intraperitoneal pada mencit yang sudah diberi senyawa uji secara oral pada selang waktu tertentu. Zat kimia yang biasa digunakan untuk menimbulkan rasa nyeri yaitu fenilkuinon. Respon mencit terhadap rangsang nyeri ini berupa geliat yaitu kontraksi perut disertai tarikan kedua kaki ke belakang dan perut menempel pada lantai. Metode ini peka untuk pengujian senyawa-senyawa analgesik non narkotik. Selain itu, metode ini cukup sederhana, mudah dilakukan, dan cukup peka untuk pengujian senyawa-senyawa yang memiliki daya analgesik lemah. Daya analgesik dihitung dengan persamaan menurut Handershot dan Forsaith (1959) sebagai berikut:

$$\% \text{ penghambatan terhadap geliat} = 100 - (P/K \times 100\%)$$

Keterangan:

P : jumlah geliat mencit pada kelompok perlakuan

K : rata-rata jumlah geliat mencit pada kelompok control

### 3. Senyawa Baru

a. Metode Modified Hot Plate (MHP)

Pertama kali dikenalkan oleh Lavich dkk (2005). MHP merupakan metode evaluasi daya analgesik yang sederhana dan sensitif untuk



mendeteksi hyperalgesia dan analgesik periferal pada tikus dan mencit (Lavich dkk,2005). Metode ini murah dan sangat cocok untuk mengevaluasi nyeri inflamasi pada hewan yang hiperaktif, seperti mencit dan tikus (Kurniawan,2007).

b. Metode Formalin Test

Pertama kali dikenalkan oleh Dubuisson dan Dennis (1977) (cit.,Xie dkk,2005) yang menjelaskan model nyeri untuk hewan pengerat (Xie dkk,2005). Formalin test merupakan metode yang paling banyak digunakan untuk menjelaskan model nyeri dan mekanisme analgesik dengan hasil yang lebih memuaskan daripada menggunakan rangsang mekanis ataupun panas (Tjolsen dkk, 1992). Metode ini dapat digunakan untuk mengevaluasi efek analgesic persisten (Coderre dan Katz, 1997).

Metode ini terdiri atas dua fase, yaitu fase I yang ditimbulkan oleh terjadinya iritasi formalin pada serabut saraf C (Hunskar dan Hole,1987), juga melibatkan substansi P dan bradykinin (Shibata dkk, 1989), dan fase II yang merupakan akibat terjadinya inflamasi dan dikeluarkannya mediator-mediator nyeri seperti prostaglandin, bradikinin, serotonin, juga histamin (Shibata dkk, 1989). Fase I terjadi setelah 0,5 menit dari penyuntikan formalin dan fase II terjadi 10-30 menit setelah penginjeksian formalin (Chi dkk, 2005). Obat-obat analgetika yang bekerja pada susunan saraf pusat seperti morfin, dapat menghambat kedua fase tersebut, sedangkan obat-obat yang beraksi periferal seperti NSAID dan kortikosteroid dapat menghambat fase II (Shibata dkk, 1989).

Metode formalin test pada mencit merupakan model pengujian aktivitas analgesic yang valid dan reliabel serta sensitif untuk beberapa kelas obat analgetika. Metode ini dapat menggambarkan obat analgetika beraksi di perifer maupun di sentral (Hunskar dan Hole,1987). Hal itulah yang menjadi kelebihan metode formalin test dibanding metode lain seperti metode rangsang asam asetat. Metode rangsang asetat biasanya digunakan untuk pengujian obat analgetika non narkotik. Akan tetapi, pemberian morfin pada metode ini dapat menurunkan jumlah geliat mencit sebagai

responnya. Selain obat-obat analgetika, obat-obat seperti antihistamin, parasimpatomimetik, simpatomimetik, simultan saraf pusat, dan agen pemblok adrenergik juga dapat menghambat jumlah geliat pada metode rangsang asetat. Oleh karena itu, obat yang diuji dengan rangsang asetat sebaiknya dilanjutkan dengan uji lain karena metode tersebut kurang spesifik (Turner, 1965).

## EVALUASI BIOAKTIVITAS ANTIHIPERTENSI

### I. HIPERTENSI

Hipertensi adalah penyakit yang muncul akibat meningkatnya tekanan darah dalam tubuh. Seseorang dikatakan menderita darah tinggi apabila tekanan darahnya berada di atas nilai normal, melebihi 140/90 mmHg. Sedangkan menurut WHO, hipertensi adalah keadaan ketika tekanan sistolik sama dengan atau lebih tinggi dari 160 mmHg dan tekanan diastolik sama dengan atau lebih tinggi dari 80 mmHg secara konsisten dalam beberapa waktu.

Tekanan darah yang ideal adalah 120/80 mmHg. Penyebab khusus hipertensi hanya bisa ditetapkan pada sekitar 10-15 % pasien. Peningkatan tekanan darah biasanya disebabkan oleh kombinasi beberapa kelainan (multifaktor). Bukti epidemologis menunjuk pada faktor genetik, stress psikologis, serta faktor lingkungan dan diet (peningkatan penggunaan garam dan berkurangnya asupan kalium atau kalsium) yang diduga sebagai penyebab terjadinya hipertensi. Faktor keturunan pada hipertensi diperkirakan sekitar 30%.

Klasifikasi hipertensi ditetapkan berdasarkan rerata dua atau tiga kali pengukuran yang cermat sewaktu duduk pada dua kali atau lebih kunjungan. Klasifikasi hipertensi berdasarkan JNC 7 untuk usia  $\geq 18$  tahun.

Klasifikasi Tekanan Darah	Tekanan Darah Sistolik (TDS) mmHg	Tekanan Darah Diastolik (TDD) mmHg
Normal	<120	<80
Prehipertensi	120-139	80-89
Hipertensi derajat 1	140-159	90-99
Hipertensi derajat 2	$\geq 160$	$\geq 100$

Mekanisme Terjadinya Hipertensi yaitu pada curah jantung dipengaruhi oleh frekuensi denyut jantung dan curah sekuncup. Frekuensi denyut dipengaruhi oleh sistem saraf simpatik (reseptor  $\beta$ -adrenergik), sedangkan curah sekuncup dipengaruhi kontraktilitas jantung dan ukuran kompartemen retensi vaskuler. Di lain pihak, aliran darah berbanding terbalik dengan resistensi perifer. Di samping itu, resistensi perifer juga dipengaruhi struktur pembuluh darah. Pada saat konstiksi maka diameternya jantung bersama dengan resistensi perifer menentukan tekanan darah arteri. Artinya, tekanan darah tinggi diakibatkan 1) volume pembuluh darah; dan 2) volume darah yang dipompa oleh jantung terlalu cepat. Tekanan darah tinggi atau hipertensi merupakan suatu kondisi kronik dimana tekanan darah arteri sistemik meningkat melebihi ambang normal. Tekanan darah dinilai baik dari tekanan darah pada saat kondisi diastol maupun sistol.

Beberapa faktor fisiologi yang dapat memengaruhi TD adalah sebagai berikut.

- a. Regulasi normal tekanan darah oleh RAAS yang sinergis dengan sistem saraf simpatis

Ginjal memegang peranan penting pada pengaturan tingginya TD yang berlangsung melalui Sistem Renin Angiotensin Aldosteron (RAAS). Bila volume darah yang mengalir melalui ginjal berkurang dan TD di glomeruli ginjal menurun, misalnya karena penyempitan arteri setempat, maka ginjal dapat membentuk dan melepaskan enzim proteolitik renin. Dalam plasma renin menghidrolisa protein angiotensinogen (yang terbentuk dalam hati) menjadi angiotensin I ((AT I). Zat ini diubah oleh enzim Angiotensin Converting Enzyme (ACE, yang disintesis antara lain di paru-paru) menjadi zat aktif angiotensin II (AT II). AT II ini antara lain berdaya vasokonstriktif kuat dan menstimulasi sekresi hormone aldosterone oleh anak ginjal dengan sifat retensi garam dan air. Akibatnya, volume darah dan TD naik lagi menjadi normal. Sistem saraf simpatis melepas neurotransmitter adrenalin dan nor-adrenalin, bersifat antara lain menciutkan arteri perifer hingga TD naik. Keadaan ini terjadi terutama pada waktu emosi hebat (gelisah, takut, marah dan sebagainya) atau selama olahraga bertenaga. Stres dan merokok juga dapat meningkatkan pelepasan noradrenalin.

b. Volume pukulan jantung.

Ini adalah jumlah darah yang pada setiap kontraksi dipompa keluar jantung. Semakin besar volume, ini semakin tinggi TD. Beberapa zat, misalnya garam dapur (NaCl), hormone pria/wanita (pil antihamil) dan kortikosteroid dapat mengikat air, sehingga volume darah total meningkat. Sebagai efeknya, tekanan atas dinding arteri meningkat dan jantung harus memompa lebih keras untuk menyalurkan volume darah yang bertambah. Hasilnya TD akan naik.

c. Kelenturan dinding arteri.

Pembuluh yang dindingnya sudah mengeras karena endapan kolesterol dan kapur (atheroma) mengakibatkan TD lebih tinggi dibandingkan dinding yang masih elastis.

Meningkatnya tekanan darah di dalam arteri bisa terjadi melalui beberapa cara:

- 1) Jantung memompa lebih kuat sehingga mengalirkan lebih banyak cairan dari pada setiap detiknya
- 2) Arteri besar kehilangan kelenturannya dan menjadi kaku, sehingga mereka tidak dapat mengembang pada saat jantung memompa darah melalui arteri tersebut.
- 3) Bertambahnya cairan dalam sirkulasi bisa menyebabkan meningkatnya tekanan darah. Hal ini terjadi jika terdapat kelainan fungsi ginjal sehingga tidak mampu membuang sejumlah garam dan air dari dalam tubuh.

Berdasarkan etiologinya hipertensi dibagi menjadi **hipertensi esensial dan hipertensi sekunder**.

- 1) **Hipertensi esensial atau hipertensi primer atau idiopatik** adalah hipertensi tanpa kelainan dasar patologi yang jelas. Ditemukan lebih dari 90% kasus hipertensi. Penyebabnya merupakan faktor genetik dan lingkungan. Faktor genetic merupakan kepekaan terhadap natrium, stress, reaktivitas pembuluh darah terhadap vasokonstriktor, resistensi insulin dan lain-lain. Faktor lingkungan yang berperan antara lain diet, merokok, stress emosi, obesitas dan lain-lain.

Hipertensi primer tidak menimbulkan gejala-gejala & tidak menimbulkan kematian langsung tapi sangat penting diperhatikan karena merupakan faktor utama penyebab penyakit pembuluh otak dan penyakit pembuluh jantung koroner.

- 2) **Hipertensi sekunder** meliputi 5-10% kasus hipertensi. Termasuk dalam kelompok ini antara lain disebabkan karena penyakit ginjal (hipertensi renal, misalnya stenosis arteri renalis, glomerulonephritis, pielonefritis, nefropati diabetic, dan lain-lain), hipertensi endokrin (hiperaldosteronisme primer, sindrom cushing, tumor medulla adrenal/feokromositoma, hipertiroidisme, hiperparatiroidisme, dan lain-lain), kelainan saraf pusat (tumor otak, ensefalitis), obat-obatan (efedrin, fenilpropanolamin, fenilefrin, amfetamin, kokain, siklosporin, eritropoetin), dan lain-lain.

## II. GEJALA DAN RESIKO HIPERTENSI

Individu yang menderita hipertensi kadang tidak menampilkan gejala sampai bertahun-tahun. Gejala bila ada menunjukkan adanya kerusakan vaskuler, dengan manifestasi yang khas sesuai sistem organ yang divaskularisasi oleh pembuluh darah bersangkutan.

Gejala dapat berupa nyeri kepala pagi dan hilang setelah bangun, baru terasa setelah beberapa tahun dan dikenali dengan pengukuran tekanan darah. Risiko hipertensi yang tidak diobati dapat menyebabkan kerusakan pada antara lain jantung, otak dan mata. TD yang terlalu tinggi menyebabkan jantung memompa lebih keras yang akhirnya mengakibatkan gagal-jantung (decompensatio) dengan rasa sesak dan edema di kaki. Pembuluh juga akan lebih mengeras guna menahan TD yang meningkat. Pada umumnya risiko terpenting adalah serangan otak (stroke, dengan kelumpuhan separuh tubuh) akibat pecahnya suatu kapiler dan mungkin juga infark jantung, cacat pada ginjal dan pembuluh mata yang dapat mengakibatkan kemunduran penglihatan.

### **III. TERAPI HIPERTENSI**

#### **3.1 Prinsip pengobatan hipertensi**

- 1) Tujuan pengobatan: menurunkan TD serendah mungkin yang tidak mengganggu fungsi ginjal, otak, jantung dan kualitas hidup.
- 2) Modifikasi pola hidup (terapi non-farmakologi).
- 3) Terapi farmakologi.

#### **3.2 Terapi Antihipertensi**

Terapi Antihipertensi terbagi menjadi 2 yaitu:

A.) Terapi Non Farmakologi B.)

Terapi Farmakologi

##### **A.) TERAPI NON-FARMAKOLOGI (MODIFIKASI POLA HIDUP)**

Modifikasi pola hidup berguna untuk menurunkan TD pada penderita dan meningkatkan efek antihipertensi, mencegah peningkatan TD pada yang normal tinggi serta mengurangi risiko kardiovaskular secara keseluruhan.

Modifikasi pola hidup dilakukan dengan cara:

- 1) Turunkan BB;
- 2) Kurangi garam;
- 3) Diet kolesterol: mengurangi risiko aterosklerosis, perbanyak serat nabati;
- 4) Berhenti merokok, minum kopi (kofein mengkonstriksi pembuluh darah), alcohol (meningkatkan tensi diastole);
- 5) Cukup istirahat, tidur, latihan relaksasi mental (yoga, chi kung) dan mengurangi stres;
- 6) Gerak badan (meningkatkan aktivitas parasimpatis/vasodilatasi dibanding sistem simpatis): 3 x/minggu jalan (agak) cepat.

##### **B.) TERAPI FARMAKOLOGI**

Pengobatan dengan antihipertensi harus selalu dimulai dengan dosis rendah agar TD tidak menurun terlalu drastis dengan mendadak. Kemudian setiap 2 minggu dosis dinaikkan sampai tercapai efek yang diinginkan. Begitu pula

penghentian terapi harus secara berangsur pula untuk mencegah bahaya meningkatnya TD dengan kuat (rebound effect). Antihipertensi hanya menghilangkan gejala TD tinggi dan tidak penyebabnya. Maka obat pada hakikatnya harus diminum seumur hidup, tetapi setelah beberapa waktu dosis pemeliharaan pada umumnya dapat diturunkan.

### **1) Pilihan Obat**

Untuk penanganan hipertensi WHO menganjurkan 5 kelompok obat dengan daya hipotensif dan efektivitas kurang lebih sama, yaitu: diuretic tiazid, penghambat beta, antagonis kalsium, ACE-inhibitor dan AT II-receptor blockers. Terapi kombinasi ternyata sangat efektif karena dapat menurunkan dosis masing-masing obat dan meningkatkan kepatuhan bila satu sediaan obat mengandung kombinasi 2-3 obat yang harus diminum satu kali sehari. Dianjurkan untuk langsung dimulai dengan 2 kombinasi obat pada penderita dengan TD lebih tinggi dari 140/90 mmHg. Pilihan obat hipertensi dengan gangguan lain dan beberapa kombinasi yang dianjurkan:

- a. Antihipertensi tunggal atau kombinasinya dimulai dari pilihan pertama diuretic atau  $\beta$ -blockers, atau kombinasinya. Pilihan kedua adalah ACE inhibitors
- b. Hipertensi dengan diabetes tipe 2: kombinasi di atas dapat mencetuskan resistensi insulin dalam hal ini sebaiknya digunakan suatu penghambat ACE atau  $\beta$ -blockers selektif, bila terdapat Kontra Indikasi (KI) : baru pakai  $\alpha$ -blockers dan antagonis-Ca long acting.
- c. Hipertensi dengan gagal jantung: diuretika, beta-blockers atau ACE-inhibitor.
- d. Hipertensi dengan angina pectoris: beta-blockers atau antagonis-Ca
- e. Hipertensi dengan retinopati diabetes: ACE-inhibitor atau AT II-receptor blockers.
- f. Hipertensi setelah infark jantung: beta-blockers atau ACE-inhibitor.
- g. Krisis hipertensi adalah kondisi yang bercirikan kenaikan mendadak tensi dengan gejala ensefalopati akut (sakit kepala hebat, gangguan kesadaran, serangan epilepsi). Pengobatan dilakukan dengan injeksi i.v. nifedipin,



enalapril, labetalol, fentolamin ( $\alpha$ -blocker), dan ketanserin dan (5 HT 2 - blocker).

## 2) Penggolongan Obat

Obat-obat yang digunakan dalam terapi hipertensi dapat digolongkan dalam beberapa kelompok, yaitu:

- a. Diuretika;
- b. Alfa-reseptor bloker;
- c. Beta reseptor bloker;
- d. Obat-obat SSP;
- e. Antagonis kalsium;
- f. Penghambat ACEI;
- g. AT-II reseptor blocker;
- h. Vasodilator.

### 1. ACE Inhibitor

ACE *inhibitor* bekerja dengan cara menghambat enzim khusus untuk memproduksi hormon angiotensin II, yaitu hormon yang dapat memicu penyempitan pembuluh darah. Dengan begitu, pembuluh darah dalam melebar, aliran darah dapat lebih lancar, dan tekanan darah dapat menurun. Contohnya benazepril, captopril, enalapril, fosinopril, lisinopril, moexipril, perindopril, quinapril, ramipril.

### 2. Alpha-2 Receptor Agonist

*Alpha-2 receptor agonist* bekerja dengan cara menekan aktivitas jaringan yang memproduksi hormon adrenalin, sehingga tekanan darah turun. Contohnya metildopa dan clonidine.

### 3. Calcium Channel Blocker

Bekerja dengan cara menghambat jalan masuk kalsium ke dalam otot jantung dan dinding pembuluh darah, sehingga menyebabkan denyut jantung melambat dan pembuluh darah melebar. Dengan begitu tekanan darah dapat turun. Contohnya amlodipine, diltiazem, felodipine, isradipine, nicardipine, nifedipine, verapamil.

#### **4. Angiotensin II Receptor Blocker**

Bekerja dengan cara menghambat pengikatan angiotensin II, sehingga pembuluh darah melebar dan tekanan darah pun menurun. Contoh candesartan, eprosartan, irbesartan, losartan, olmesartan, telmisartan, valsartan.

#### **5. Diuretik**

Diuretik bekerja dengan cara membuang kelebihan garam (natrium) dan cairan di dalam tubuh untuk menormalkan tekanan darah. Ada beberapa jenis diuretic yang bisa digunakan untuk menurunkan tekanan darah, yaitu diuretik loop, thiazide, diuretik hemat kalium.

#### **6. Penghambat Adenergik Perifer**

Bekerja dengan cara memblokir neurotransmitter di otak, sehingga tekanan darah dapat berkurang. Umumnya obat ini diberikan kepada pasien hipertensi jika obat antihipertensi lain belum ada yang berhasil. Contoh obatnya reserpin.

#### **7. Penghambat Alfa**

Bekerja dengan cara menghambat hormon katekolamin agar tidak mengikat dengan reseptor alfa. Cara kerja ini akan membantu sirkulasi darah lebih lancar, jantung berdenyut secara normal, dan tekanan darah menurun. Contoh doxazosin, terazosin.

#### **8. Penghambat Beta**

Bekerja dengan cara menghambat hormon adrenalin, sehingga jantung berdetak lebih lambat. Dengan begitu, jantung memompa lebih sedikit darah dan dapat menurunkan tekanan darah. Contoh bisoprolol, propanolol.

### **3) Mekanisme Kerja Obat Antihipertensi:**

- a. Meningkatkan pengeluaran air dari tubuh : diuretik.
- b. Memperlambat kerja jantung:  $\beta$ -blockers.
- c. Memperlebar pembuluh: vasodilator langsung (hidralazin, minoksidil), antagonis kalsium, ACEI, dan AT-II blockers.
- d. Menstimulasi SSP :  $\alpha$ -2 agonis sentral (klonidin, metildopa, guanfasin, reserpin).
- e. Mengurangi pengaruh SSO terhadap jantung dan pembuluh:
  - 1)  $\alpha$ -1 blockers (prazosin, doxazosin, terazosin, ketanserin, urapidil).
  - 2)  $\alpha$ -1 dan  $\alpha$ -2 blockers : fentolamin.

3)  $\beta$ -blockers : propranolol, atenolol, metoprolol, pindolol.

4)  $\alpha, \beta$ -blockers : labetalol dan karvedilol.

#### **4) Efek Samping (ES) Obat Antihipertensi**

##### **❖ ES umum:**

Hidung mampat (akibat vasodilatasi mukosa), mulut kering, bradikardia (kecuali vasodilator langsung: justru tachycardia), rasa letih dan lesu, gangguan penglihatan, gangguan lambung usus (mual, diare) dan adakalanya impotensi (terutama obat-obat sentral). ES ini sering bersifat sementara, hilang dalam 1-2 minggu, dapat dihindari dengan dosis rendah yang berangsur-angsur dinaikkan. Sebaiknya obat diminum sesudah makan (p.c.) agar kadar obat dalam plasma jangan mendadak mencapai puncak tinggi (dengan akibat hipotensi kuat).

##### **❖ ES khusus**

- a. Hipotensi ortostatik, yakni turunnya TD lebih kuat bila tubuh tegak (= ortho, Latyn) daripada dalam keadaan berbaring. Prevalensi pada lansia 5-60%.
- b. Depresi (obat yang bekerja sentral): reserpin dan metildopa juga pada  $\beta$ -blockers yang bersifat lipofil (propranolol, alprenolol, dan metoprolol).
- c. Retensi garam dan air menyebabkan bertambahnya berat badan atau edema (antagonis Ca, reserpin, hidralazin, metildopa). ES ini dapat diatasi dengan kombinasi bersama suatu diuretik.
- d. Penurunan ratio HDL: LDL (tiazid, klortalidon, dan  $\beta$ -blockers).
- e. Batuk kering (ACEI).

#### **IV. HIPERTENSI PADA HEWAN UJI**

Berbagai model eksperimental hipertensi telah dikembangkan untuk memperoleh informasi tentang etiopatogenesis hipertensi. Model ini juga digunakan dalam skrining farmakologis potensi agen antihipertensi. Di masa lalu, model hewan hipertensi jarang digunakan untuk pengujian potensi obat antihipertensi. Setelah berbagai molekul baru obat disintesis, penggunaan model

hewan meningkat untuk menguji molekul ini. Model hewan baru hipertensi adalah dikembangkan sebagai wawasan baru dalam patogenesis hipertensi terungkap.

Hipertensi pada hewan memiliki banyak kesamaan dengan hipertensi pada manusia. Kebanyakan uji hipertensi pd hewan dikembangkan dengan menggunakan faktor-faktor etiologis yang dianggap berperan dalam hipertensi pada manusia seperti asupan garam, hiperaktivitas sistem renin angiotensin-aldosteron dan faktor-faktor genetik. Karena regulasi tekanan darah bersifat multifaktorial, efektivitas agen antihipertensi pada suatu model tidak berarti bahwa mekanisme aksi agen tersebut dalam model tersebut berkaitan dengan patogenesis peningkatan tekanan darah.

**Model hewan yang ideal untuk hipertensi harus memenuhi kriteria sebagai berikut :**

- Harus dapat dilakukan pd hewan kecil.
- Harus mudah dilakukan dan reproduibel secara seragam
- Sifat antihipertensi potensial dari agen antihipertensi harus dapat diprediksi
- Harus mengkonsumsi jumlah minimal dari bahan uji
  - Harus dapat dibandingkan dengan bentuk hipertensi pada manusia

Penggunaan hewan uji pada studi hipertensi di masa lalu kebanyakan studi dilakukan pada anjing, namun pada saat ini tikus merupakan jenis hewan yang sering digunakan. Tikus hipertensi spontan (SHR), genetik strain tikus hipertensi, adalah hewan pilihan untuk skrining agen antihipertensi. SHR adalah landasan penelitian medis dalam eksperimental hipertensi. Kelinci, monyet, babi, dan tikus juga digunakan untuk pengujian hipertensi.

**Tipe-tipe model hewan untuk hipertensi :**

a. Renovascular hypertension

Merupakan model hipertensi yang paling sering digunakan. Pada hipertensi renovaskular, RAAS berperan penting. Secara eksperimental, hipertensi renal diakibatkan oleh konstiksi arteri ginjal, yang mengaktivasi sistem renin angiotensin-aldosteron perifer dan sistem saraf simpatis. Sejumlah faktor seperti penurunan volume darah dapat menyebabkan stimulasi simpatis dalam model ini. Renin disekresikan oleh ginjal ketika aktivitas simpatis meningkat. Renin mengkonversi angiotensinogen menjadi angiotensin-I. Angiotensin-I diubah

menjadi angiotensin-II oleh angiotensin converting enzim (ACE). Angiotensin-II adalah vasokonstriktor kuat dan meningkatkan tekanan darah, juga menyebabkan pelepasan aldosteron yang menyebabkan garam dan retensi air yang mengakibatkan peningkatan volume darah dan hipertensi.

Metode induksi hipertensi renovaskular :

1. Metode Goldblatt

Metode ini melaporkan bahwa penyempitan arteri parsial ginjal pada anjing menghasilkan hipertensi. Jenis hipertensi juga telah diinduksi dalam kelinci, tikus dan monyet. 3 jenis hipertensi yang diinduksi oleh metode goldblatt :

- One kidney one clip (1k1c) hypertension

Konstriksi arteri ginjal dilakukan pada satu sisi dan ginjal kontralateral dihilangkan. Terjadi peningkatan tekanan darah dalam beberapa jam. Karena tidak ada ginjal lainnya, tidak terjadi pressure diuresis dan natriuresis, sehingga terjadi retensi garam dan air dengan cepat. Aktivitas renin plasma umumnya normal. Hipertensi bersifat volume dependent.

- Two kidney two clip (2k2c) hypertension

Konstriksi aorta atau tiap arteri ginjal. Terdapat jaringan ginjal iskemik yang mensekresikan renin sehingga mengakibatkan peningkatan tekanan darah.

2. Hipertensi diinduksi oleh kompresi eksternal parenkim ginjal

- Page Hypertension

Selembur cellophane diletakkan di sekitar ginjal dan dipertahankan posisinya dengan benang bedah diikatkan secara longgar di sekitar hilus ginjal. Lapisan fibrokollagen terbentuk di sekitar ginjal dalam 3-5 hari karena reaksi terhadap bahan asing. Lapisan ini menekan parenkim ginjal sehingga menyebabkan penurunan tekanan vaskuler ginjal. Hal ini menyebabkan membesarnya volume ekstraseluler yang mengakibatkan peningkatan resistensi perifer dan pada akhirnya meningkatkan tekanan darah.

- Grollman Hypertension

Dapat dilakukan pada anjing, kelinci, dan tikus. Two kidney one ligature dan One kidney one ligature.

### 3. Coarctation of aorta

Koarktasi dapat dilakukan pada atas arteri ginjal, di antara arteri ginjal dan superior mesenteric arteries atau diantara 2 arteri ginjal dengan arteri kanan di atas dan arteri kiri di bawah lokasi koarktasi. Peningkatan tekanan darah serupa dengan model 2K1C dapat dihasilkan dengan karet pada aorta abdominal bersamaan dengan konstiksi arteri ginjal kanan selama 8 minggu. Koarktasi dapat dilanjutkan dengan nefrektomi unilateral.

### 4. Reduced renal mass

Reduksi jaringan ginjal hingga 5/6 ablasi massa ginjal menyebabkan hipertensi. Pada metode ini, ginjal kanan dihilangkan dan 2-3 cabang arteri ginjal kiri diikat untuk menyebabkan infark sekitar 2/3 ginjal kiri.

### 5. Glomerular sclerosis secondary to microsphere embolisation

- a. Dietary hypertension
- b. Endocrine hypertension
- c. Neurogenic hypertension
- d. Psychogenic hypertension
- e. Genetic hypertension
- f. Model lainnya

## V. Uji Aktivitas Antihipertensi

Teknik evaluasi aktivitas agen-agen antihipertensi dapat dilakukan dengan pengukuran tekanan darah secara **langsung** maupun secara **tidak langsung**.

Pengukuran tekanan darah secara langsung biasa dilakukan untuk penapisan terarah aktivitas farmakodinamik antihipertensi dapat digunakan tikus yang sedianya hipertensif. Selain itu, hipertensi dapat diinduksi pada hewan percobaan dengan berbagai cara, Misalnya dengan pemberian diet Na CI pada tikus, dimana setelah 6 minggu rata-rata tekanan darahnya akan meningkat. Selain itu untuk hipertensi renal dapat juga diinduksi dengan cara menjepit atau mengikat arteri renalis tikus. Hipertensi renal dapat juga terjadi apabila dilakukan penekanan ada ginjal dengan cara mengikatnya atau membungkusnya dengan selofan.

## 5.1. Prosedur Pengujian

Pada prosedur pengujian ini dibagi menjadi 2 yaitu, **Penentuan tekanan darah secara langsung dan tidak langsung.**

### 1. Penentuan tekanan darah secara langsung

- Hewan dengan berat terukur dianestesi dengan pentotal ataupun uretan (i.p).
- Setelah hewan terbius sempurna ditelentangkan di atas meja operasi dan diikat keempat kakinya.
- Kemudian dilakukan beberapa kanulasi seperti trakea, pembuluh darah vena dan arteri (karotid arteri, jugular vein, arteri dan vena femoral), kantong kemih (bladder).
- Ujung kanula arteri yang berlawanan arah dari jantung dihubungkan dengan kimograf atau transduser tekanan yang seterusnya berhubungan langsung dengan penganalisa (kimograf, Lab VIEW, Power lab dsb) dan recorder.

Pemberian obat dapat dilakukan secara kronis (beberapa kali sebelum hari percobaan ) maupun secara akut (disaat percobaan berlangsung) melalui vena jugular atau vena femoral.

#### Note:

- Untuk percobaan kronis, tekanan darah dibandingkan antara tekanan darah hewan perlakuan (yang diberi obat uji) dengan tekanan darah hewan kontrol (tanpa diberi obat uji),
- Untuk percobaan akut, perubahan tekanan darah pada perbedaan tekanan darah hewan awal sebelum pemberian obat secara akut (base line) dengan tekanan darah setelah pemberian obat secara akut melalui pembuluh darah vena.

## 2. Penentuan tekanan darah secara tidak langsung

Penentuan tekanan darah secara tidak langsung biasanya dapat dilakukan dengan menggunakan alat '*tail curf*'.

Alat tail curf akan **mendeteksi tekanan darah melalui tekanan arteri ekor tikus**. Dengan menghidupkan mesin tailcurf, transduser tekanan yang berupa cincin karet yang menyelubungi transduser akan menjepit pangkal ekor tikus secara perlahan, sekaligus akan merekam tekanan arteri ekor baik itu tekanan sistole maupun tekanan diastole yang akan secara bersamaan akan langsung tercatat pada recorder berupa print out.

Sebelum dilakukan percobaan, tikus percobaan dikondisikan terlebih dahulu dalam alat/kandang khusus agar kondisi mental dan tekanan darahnya normal. Kemudian baru dilakukan pencatatan tekanan darah dari setiap kelompok tikus yang sudah diberikan sediaan uji dengan dosis yang sesuai.

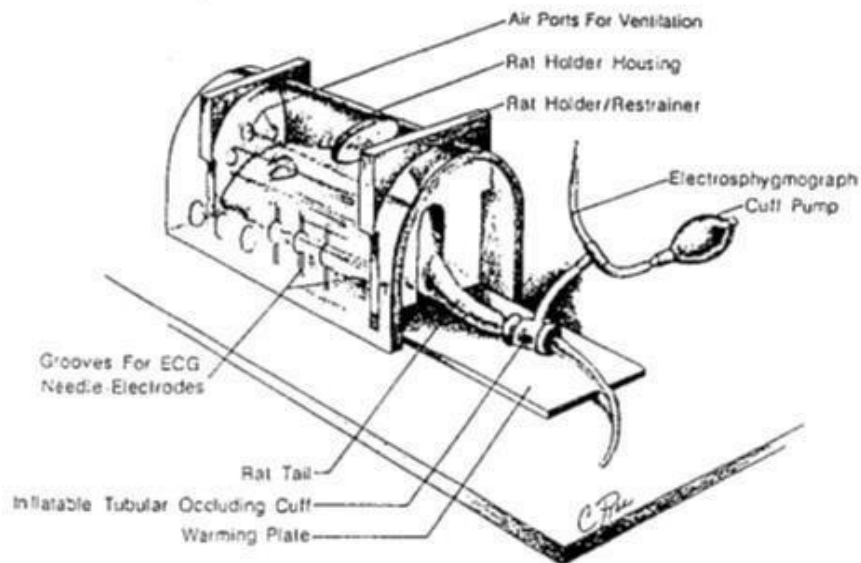


Figure 21 Rat in specialized restrainer for recording indirect blood pressure.

Gambar 5.1. Pengujian Antihipertensi pada Tikus Menggunakan *Tail Curf*



## **5.2. Adaptasi Tikus Putih dalam lingkungan laboratorium**

Hewan uji yang digunakan yaitu tikus jantan yang berusia 2-3 bulan dengan berat badan 150-250 gram, sebanyak 25 ekor tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan.

Tikus jantan galur Wistar diadaptasikan dalam kandang selama satu minggu dengan pemberian minum akuades ad.libitum setiap hari dan pakan standar BR2. Pemberian pakan dilakukan sebanyak dua kali per hari, yaitu pada pagi dan sore hari. kemudian dipuaskan 8-16 jam. Kebersihan kandang dijaga dengan mengganti sekam dan membersihkan kandang hewan uji setiap dua hari sekali. Kandang tikus harus terhindar dari lingkungan yang bising untuk menjaga agar tikus tidak mengalami stress yang dapat mempengaruhi hasil penelitian.

## **5.3. Contoh Pengujian Aktivitas**

Berdasarkan jurnal yang didapatkan, pada uji aktivitas antihipertensi disini menggunakan metode induksi adrenalin untuk meningkatkan tekanan darah tikus. Pada percobaan ini, untuk pengukuran tekanan darah yang dilakukan dengan metode tidak langsung menggunakan cara Tail Cuff methode menggunakan alat blood pressure analyzer. Metode ini memungkinkan untuk mengetahui tekanan darah sistolik dan diastolik.

### **5.3.1 ALAT DAN BAHAN**

#### **Alat:**

- Spuit 3 ml
- Sonde atau jarum oral
- Alat suntik
- Blood pressure analyzer

#### **Bahan:**

- Daun dewandaru
- Tikus putih jantan 25 ekor
- Aquades
- Etanol
- Kaptropil
- Adrenalin

**Cara Kerja :**

1. Tikus ditimbang dan dikelompokkan, kemudian dilakukan aklimatisasi selama 1 minggu di tempat penelitian untuk penyesuaian dengan lingkungan.
2. Setelah tikus sudah di aklimatisasi, tikus terlebih dahulu diukur tekanan darahnya sebagai tekanan darah awal
3. Tikus diberikan larutan adrenalin 0,02 mg/200 g bb secara intraperitoneal. Ukur lagi tekanan darah tikus setelah pemberian adrenalin, pengukurannya dilakukan di bagian ekor tikus dan dirandom.
4. Lalu masing-masing kelompok diberikan :
  - a. Kontrol negatif,
  - b. Kaptopril (kontrol positif) sekali sehari,
  - c. Ekstrak daun dewandaru dosis 0,3 mg/200 g bb,
  - d. Ekstrak daun dewandaru dosis 1,2 mg/200 g bb,
  - e. Pada minggu ke-3 dilakukan pengukuran tekanan darah tikus putih jantan masing-masing kelompok

**Kesimpulan :**

Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan dengan membandingkan kaptopril dan ekstrak daun dewandaru didapatkan hasil bahwa daun dewandaru mampu menurunkan tekanan darah. Namun efek penurunan tekanan darah pada kelompok ekstrak daun dewandaru lebih rendah dibandingkan kelompok kaptopril.

Senyawa yang diduga berperan sebagai antihipertensi adalah flavonoid dan tanin. Flavonoid dapat menurunkan resistensi sistem vaskuler (SVR) karena menyebabkan vasodilatasi dan juga mempengaruhi kerja ACE yang dapat menghambat perubahan angiotensin I menjadi angiotensin II. Efek vasodilatasi dan ACE inhibitor dapat menurunkan tekanan darah, sehingga daun dewandaru dapat menurunkan tekanan darah

## Referensi

1. Adler, Richard & Mara, Elise, 2016. Typhoid Fever-A History. Mc Farland & Company. North Carolina.
2. Baird-Parker, T.C. 2009. Staphylococcus aureus. p1317-1335. In The Microbiological Safety and Quality of Food. Volume II. Lund, B.M., BairdParker, T.C. and Gould, G.W. eds. Published by Aspen Publishers
3. Berman, Barry dan Joel R. Evans. (2012). Retail Management, a Strategic Approach, (8th Edition). New Jersey: Pearson.
4. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas). Jakarta: Depker RI; 2007.
5. Tjay, T.H., dan Rahardja, K.. (2010). Obat-Obat Penting, Elex Media Komputindo, Jakarta.
6. Aslam, M. Tan, C.K. dan Prayitno, A 2003. Farmasi Klinis: Menuju Pengobatan Rasional dan Penghargaan Pilihan Pasien. PT Elex MediaKomputindo Kelompok Gramedia.Jakarta. Hal. 155, 156, 157-158.
7. Arifin, Helmi. Diktat Teknologi Evaluasi Bioaktivitas. Diktat Kuliah. Fakultas Farmasi Universitas Andalas. Padang; 2011
8. Bishop, G. D. 1994. Health Psychology: Integrating Mind and Body, 125-127 & 142-147, Allyn and Bacon. Boston
9. Adnyana, I Ketut, Retta Nugrahani, Suwendar, Zulfan Zazuli. Uji Aktivitas Antistres dan Sedatif Minyak Biji Pala (*Myristica fragrans Houtt.*) pada Mencit Jantan Galur Swiss Webster. *Acta Pharmaceutica Indonesia*. 37(2):2012;33-38.
10. Agustina, M. Terapi Elektrokonvulsif (ECT) Pemberian Terapi Elektrokonvulsif (ECT) Terhadap Peningkatan Fungsi Kognitif Klien Gangguan Jiwa. *Jurnal Ilmiah Ilmu Keperawatan Indonesia*. 2018; 8(03), 443–449. <https://doi.org/10.33221/jiiki.v8i03.127>
11. Ajeng Ratna Ningtyas, Irma Melyani Puspitasari, Rano Kurnia Sinuraya. Review Artikel: Farmakoterapi Depresi dan Pengaruh Jenis Kelamin Terhadap Efikasi Antidepresan. *Farmaka Suplemen*. 2018; 16(2), 186–201.

12. Valencia O. Efek Antistres Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amarylifolius* Roxb.) Pada Mencit Jantan. Skripsi. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta; 2008.
13. Samirana, P. O., Putra, P. A. S., Lelliqia, N. P. E. Uji Aktivitas Adaptogenik Ekstrak Etanol Kulit Batang Bidara (*Zizipus mauritiana* Auct. non Lamk.) dengan metode *Swimming Endurance Test* pada Mencit Galur BALB/C. Universitas Udayana. Bali
14. Anggaeni, A. S. Uji Potensi Efek Hipnotik Natrium Tiopental oleh Ekstrak Etanol 70% Daun Umyung (*Gynura aurantica* DC) pada Mencit Putih Jantan Galur Swiss Webster. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta: 2008
15. Praristiya, M. R. S. *Comparisson of Date Palm (Phoenix dactifera L) Juice Tonic Activity And X Suplement on Male Mice*. Jurnal Darul Azhar. 8(1): 74-82
16. Shimada, Takashi, Kinzo Matsumoto, Miyuki Osanai, Harumi Matsuda, Katsutoshi Terasawa, Dan Hiroshi Watanabe. *The Modified Light/Dark Transition Test in Mice: Evaluation of Classic and Putative Anxiolytic and Anxiogenic Drugs*. *Gen. Pharmac.* 26(1):1995;205-210. Copyright : 1995 Elsevier Science Ltd Printed in Great Britain.
17. Abubakar, Abdullahi Rabi, and Mainul Haque. 2019. "Anxiolytic Testing of Medicinal Plants in Nigeria: Frequently Used Experimental Models." *Medeniyet medical journal* 34(1): 83–98.
18. Azeez, Taiwo Olanrewaju. 2015. "The Open Field and Animal Behaviour." Ladoke Akintola University of Technology.
19. Bourin, Michel, Fabienne Masse, Eric Dailly, and Martine Hascoët. 2005. "Anxiolytic-like Effect of Milnacipran in the Four-Plate Test in Mice: Mechanism of Action." *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 81(3): 645–56.
20. Calabrese, Edward J. 2008. 38 Critical Reviews in Toxicology An Assessment of Anxiolytic Drug Screening Tests: Hormetic Dose Responses Predominate.

21. Coderre, T.J. and Katz, J., 1997, Peripheral and Central Hyperexcitability: Deferential Signs and Symptoms in Persistent Pain. *Bahave. Barin. Sci.* 20, 404-419.
22. Departemen Kesehatan RI. 1991. Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitofarmaka, Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik, 3 dan 259. Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phytomedika: Jakarta.
23. Goyal, M., M.Ghosh B.P.N. and Sasmal D., 2013. Analgesic and anti-inflammatory studies of cyclopeptide alkaloid fraction of leaves of *Zizyphus nummularia*, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(1), 365- 371.
24. Hunskaar, S. and Hole K., 1987, The Formalin Test in mice: Dissociation Between Inflammatory Pain. *Pain*, 30, 103-114.
25. Kurniawan, Heri, 2007, Daya Analgetik Akut dan Persisten Gamavuton-0 pada Mencit Jatan Swiss, Skripsi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 18-19.
26. Lavich T.R., Cordeiro, R.S.B., Silva P.M.R, and Martins, M.A., 2005, A Novel Hot Plate Test Sensitive to Hyperalgesic Stimuli and Non-Opioid Analgesic, *Braz.J.Med.Biol.Res.*, 38, 445-451.
27. Mutshcler. 1999. *Dinamika Obat*, diterjemahkan oleh Widiyanto, M. B. dan Ranti, A. S., 177-183. Penerbit ITB: Bandung.
28. Nair, Muralithran dan Peate Ian., 2015. *DasarDasar Patofisiologi Terapan*, Edisi Kedua. Bumi Medika, Jakarta, 469-480.
29. Roach, S. S. 2004. *Introductory Clinical Pharmacology*, edisi 7, 150. Lippincott Williams & Wilkins: New York.
30. Shibata, M., Ohkubo, T., Takahashi, H., and Inoki, R., 1989, Modified Formalin Test : Characteristic Biphasic Pain Response, *Pain*, 38, 347-352.
31. Ann Soenarta A, dkk. *Pedoman Tatalaksana Hipertensi Pada Penyakit Kardiovaskular*. In: *Physical Review D. Pertama*. Jakarta: Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskuler Indonesia; 2015
32. Woro Indijah S. *Farmakologi*. Jakarta: KEMENKES; 2016.
33. Badyal DK, Lata H, Dadhich AP. *Animal Models Of Hypertension And Effect Of Drugs*. *Indian J Pharmacol.* 2003;35(6):349–62.

34. Umayasari EKA, D LVI, Rahayu MP. Aktivitas Antihipertensi dari Ekstrak Etanol Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) pada Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Adrenalin. *J Farm Indones.* 2015;12(1):1–6.

# ABOUT AUTHOR



**Apt. Dwisari Dillasamola, M.Farm**

Saat ini menduduki jabatan fungsional sebagai dosen di Fakultas Farmasi, Universitas Andalas. Lulus dari Fakultas Farmasi Universitas Andalas tahun 2004, kemudian Program Magister Fakultas Farmasi Universitas Andalas tahun 2011. Penelitian dan keahlian di bidang Imunologi Farmakologi. Saat ini bekerja sebagai dosen Farmakologi–Imunologi & Farmasi Klinik Fakultas Farmasi Universitas

ISBN 978-623-395-230-9

