

Efektivitas Analgesik Kombinasi Parasetamol dan Ekstrak Kasar Nanas terhadap Refleks Geliat Mencit yang Diinduksi Asam Asetat

(The Analgesics Effectivity of Combination of Paracetamol and Pineapple Crude Extract on Writhing Reflex in Mice Induced by Acetic Acid)

Fauqi Amalia, Cholis Abrori, Ika Rahmawati Sutejo
Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Jl. Kalimantan 37 Kampus Tegal Boto Jember 68121
Email: dollis_dr@yahoo.com

Abstract

Bromelain is a proteolytic enzyme which can be found in pineapple. The proteolytic activity of bromelain commonly used as an anti-inflammatory agent and antioedema, antithrombotic, and fibrinolytic agent. This study aimed at determining the combination effectivity of paracetamol and bromelain, pineapple crude extract's protein, on pain response in mice and its interaction. This research used true experimental design with posttest only control group. Data analysis using Kruskal-Wallis test and application CompuSyn. The mice induced by acetic acid as the pain's trigger and writhing reflex calculated every 5 minutes for 1 hour. The results of this study were expressed by pain protection percentage of paracetamol, crude extract of pineapple, a combination dose of paracetamol and crude extract of pineapple ½:½ and 1:1 was 52.23 ± 3.94%; 51.28 ± 6.71%; 77.88 ± 4.02%; and 71.24 ± 10.54%. The results of the CompuSyn dose combination analysis showed a synergistic effect that is seen from the CI value. In conclusion, analgesic effectivity combination of paracetamol and pineapple crude extract more effective than single dose usage and showed a synergistic effect.

Keywords: analgesic, bromelain, pain, paracetamol, pineapple

Abstrak

Bromelain merupakan suatu enzim proteolitik yang didapat dari tanaman nanas. Aktivitas proteolitik dari enzim bromelain paling sering digunakan sebagai salah satu agen anti inflamasi dan antiedema, antitrombotik, dan fibrinolitik. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui efektivitas kombinasi paracetamol dan ekstrak kasar nanas yang didalamnya terkandung protein bromelain terhadap respon nyeri mencit dan mengetahui interaksi zat yang ditimbulkan. Jenis penelitian ini adalah *true experimental* dengan rancangan *posttest only control group*. Analisis yang digunakan dalam penelitian ini yaitu uji Kruskal-Wallis dan aplikasi CompuSyn. Penelitian ini menggunakan induksi asam asetat sebagai pemicu nyeri dan dihitung refleks geliat yang dihasilkan tiap 5 menit selama 1 jam. Hasil dari penelitian ini yang dinyatakan oleh daya proteksi berturut-turut paracetamol, ekstrak kasar nanas, kombinasi paracetamol dan ekstrak kasar nanas dosis ½:½, dan dosis 1:1 adalah 52,23±3,94 %; 51,28±6,71 %; 77,88±4,02 %; dan 71,24±10,54 %. Analisis hasil dosis kombinasi pada aplikasi CompuSyn menunjukkan efek sinergis yang dilihat dari nilai CI. Dapat disimpulkan bahwa efek analgesik kombinasi ekstrak kasar nanas dan paracetamol lebih efektif dibandingkan pada dosis tunggal dan menghasilkan efek sinergis.

Kata kunci: analgesik, bromelain, nyeri, paracetamol, nanas

Pendahuluan

Nyeri yang merupakan salah satu respon inflamasi yang terjadi karena adanya sensasi perangsangan sistem saraf. Hal ini terjadi akibat adanya kerusakan jaringan sehingga terlepasnya mediator inflamasi seperti bradikinin dan prostaglandin (PGE_2) yang akan menstimulasi suatu respon nyeri [1]. Namun, respon nyeri tidak hanya terjadi ketika terjadi suatu kerusakan jaringan tapi bisa karena rangsangan lain. Respon nyeri tersebut dapat membuat penderita merasakan tidak nyaman, hal ini dapat dikurangi dengan pemberian analgesik seperti paracetamol atau penggunaan NSAIDs.

Ada beberapa tanaman yang diketahui memiliki efek analgesik, salah satu contohnya adalah buah nanas (*Ananas comosus*). Beberapa penelitian telah mengonfirmasi bahwa buah nanas memiliki efek analgesik karena adanya kandungan enzim bromelain. Bromelain merupakan suatu enzim proteolitik yang didapat dari *Ananans comosus* L., atau tanaman nanas. Bromelain yang terkandung dalam nanas memiliki manfaat sebagai agen anti inflamasi, mempercepat pertumbuhan sel, anti trombotik, dan manfaatnya bagi kulit adalah sebagai debrideman. Beberapa penelitian telah mengindikasikan bromelain sebagai salah satu fitofarmaka. Namun, penelitian lebih lanjut perlu dilakukan agar pernyataan tersebut dapat diterima secara ilmiah sebagai suatu fitofarmaka dan dapat diaplikasikan dalam dunia medis.

Bromelain adalah enzim protease dalam ekstrak kasar buah nanas yang merupakan satu dari tiga enzim proteolitik, bromelain, papain, dan fisin, yang kadarnya dapat diketahui dari pengukuran aktivitas bromelain terhadap substratnya. Bromelain yang terkandung dalam nanas dapat menurunkan sintesis PGE_2 dan substansi P, sehingga beberapa penelitian menyatakan bahwa bromelain memiliki efek analgesik dan anti inflamasi [2].

Paracetamol merupakan metabolit fenasetin dengan efek antipiretik ditimbulkan oleh gugus aminobenzen. Asetaminofen di Indonesia lebih dikenal dengan nama paracetamol, dan tersedia sebagai obat bebas [3]. Obat ini memiliki efek menghambat COX-1 dan COX-2 lemah pada jaringan perifer dan tidak memiliki efek anti inflamasi yang bermakna. Temuan terbaru menunjukkan bahwa juga memiliki efek menghambat COX-3 di sistem saraf pusat. COX-3 tampaknya merupakan produk varian *splice* gen COX-

Paracetamol menghambat prostaglandin bukan memblokir secara langsung pada sintesis prostaglandin sehingga obat ini hanya mengurangi nyeri ringan sampai sedang [4].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas analgesik pada dosis kombinasi ekstrak kasar nanas dan paracetamol terhadap respon nyeri mencit dan mengetahui interaksi komponen yang ditimbulkan pada dosis kombinasi.

Metode Penelitian

1. Metode Uji Efek Analgesik Dengan Induksi Kimia

Metode ini menggunakan zat kimia yang diinjeksikan pada hewan uji secara intraperitoneal, sehingga akan menimbulkan nyeri. Zat kimia yang diinjeksikan dalam penelitian ini yaitu asam asetat 0,6%. Daya analgetik dapat dievaluasi menggunakan persen penghambatan terhadap geliat menggunakan persamaan menurut Handershot dan Forsaith. Respon mencit yang diamati adalah lompatan dan kontraksi perut dengan disertai tarikan kaki belakang (rentangan) yang disebut geliat [2].

2. Tahap Penentuan Dosis

Penelitian ini dilakukan pada mencit sebagai hewan coba sehingga harus dilakukan konversi dosis untuk mencit. Berdasarkan tabel konversi dosis, dosis paracetamol untuk mencit 20 g adalah 91 mg/kgBB [5]. Dosis ekstrak kasar nanas yang digunakan diperoleh melalui uji pendahuluan dosis ekstrak kasar nanas yang memiliki efek analgesik setara paracetamol dengan menggunakan uji regresi linier dan variannya ditinjau dari proyeksi grafik yang dihasilkan. Uji pendahuluan menggunakan 1 ekor mencit kontrol yang diberikan paracetamol per oral dan 5 mencit yang diberikan ekstrak kasar nanas per oral dengan dosis 10 mg/kgBB, 20 mg/KgBB, 40 mg/KgBB, 80 mg/KgBB, 160 mg/KgBB.

3. Pembuatan Ekstrak Kasar Nanas

Buah nanas yang masih segar dan baik yaitu yang daging buahnya matang, tampak berwarna kuning dan berair untuk digunakan sebagai bahan uji penelitian. Buah nanas ini diperoleh dari kebun buah nanas Desa Kemuning Lor, Patrang, Jember. Buah nanas yang telah dikupas dan dipotong dadu dimasukkan kedalam blender ditambahkan aquades, es batu yang dibuat dari aquadest,

dan buffer pH 7 kemudian diblender sehingga diperoleh jus buah nanas dingin yang masih mengandung ampas yang terdispersi di dalamnya. Jus buah nanas dingin yang masih mengandung ampas diperas dan hasil perasan disentrifugasi pada suhu 4 °C dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Setelah itu, supernatan diambil dan dipisahkan dari endapannya. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar dari enzim bromelain. Supernatan dibekukan selama satu malam untuk dilakukan *freeze drying* supaya didapatkan serbuk ekstrak kasar yang lebih stabil.

4. Uji protein Bradford

Uji Bradford merupakan suatu uji untuk mengukur konsentrasi protein total dalam suatu larutan. Data absorbansi protein *bovin serum albumin* (BSA) diolah dengan *Microsoft Excel* untuk mengetahui grafik dan persamaan kurva standar. Selanjutnya, data absorbansi ekstrak kasar nanas diolah dengan menggunakan persamaan kurva standar sehingga didapatkan kadar protein dari ekstrak kasar nanas dalam satuan µg/µl.

5. Tahap Percobaan

Pada saat hari pengujian mencit dipuaskan selama 3-4 jam sebelum perlakuan. Penentuan dosis ekstrak kasar nanas dilihat dari proyeksi grafik yang dihasilkan pada uji pendahuluan yang dilakukan. Kelompok 1 diberikan aquades, kelompok 2 diberikan paracetamol, kelompok 3 diberikan ekstrak kasar nanas, kelompok 4 diberikan kombinasi paracetamol-ekstrak kasar nanas dengan rasio dosis 1/2:1/2, dan kelompok 5 diberikan kombinasi paracetamol-ekstrak kasar nanas dengan rasio dosis 1:1 secara per oral. Tiga puluh menit kemudian mencit diberikan asam asetat 0,6% 0,5 cc secara intraperitoneal dan diamati refleks geliat dan kontraksi abdomennya tiap 5 menit selama 1 jam.

Hasil Penelitian

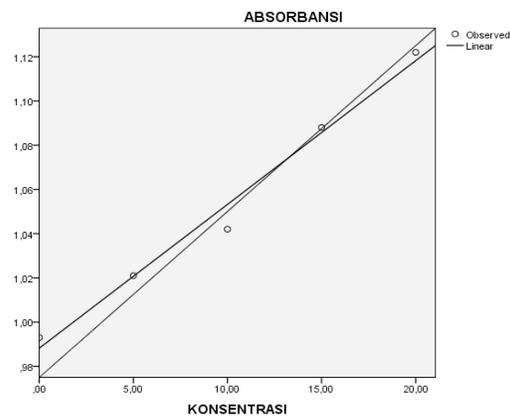
Penelitian ini menggunakan nanas yang sudah matang dengan berat ± 1,5 kg dan daging buah yang berwarna kuning tua, didapatkan sebanyak ± 1500 ml jus buah nanas. Setelah itu jus buah nanas disaring untuk memisahkan sari buah dan ampasnya sehingga diperoleh ± 1000 mL sari buah nanas. Sari buah nanas kemudian disentrifugasi pada suhu 4 °C agar kandungan protein didalamnya tidak rusak

during this process. After that it was taken supernatant and obtained ± 700 ml of coarse banana extract. Coarse banana extract in liquid form was then frozen to carry out the *Freeze Drying* process. After the *Freeze Drying* process, a dry banana extract of 48,12 grams was obtained.

After that, the protein content determination was carried out in the coarse banana extract. The protein content in the coarse banana extract was obtained by comparing the absorbance of the coarse banana extract with the protein standard that has been known protein content.

Tabel 1. Nilai absorbansi protein standar

Kandungan protein (µg/µL)	Nilai absorbansi
0	0.993
5	1.021
10	1.042
15	1.088
20	1.122

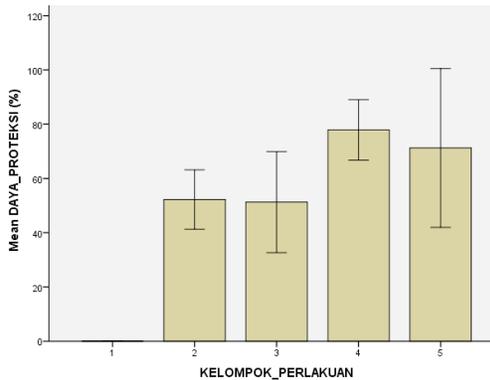


Gambar 1. Kurva standar absorbansi protein

The absorbance result at a concentration of 1 g/mL of coarse banana extract was 1.339. This value was then compared with the linear regression absorbance of the protein standard, so that the protein content in the coarse banana extract was found to be 2,7 mg/mL. The protein content in the coarse banana extract was used to calculate the amount of coarse banana extract given at the dose that has been determined in the research procedure.

The analgesic efficacy test was carried out after the preliminary test of the dose of the coarse banana extract and the protein test with the Bradford method. Based on the preliminary test of the dose of the coarse banana extract that has an effect equivalent to paracetamol

diperoleh dosis 40 mg/KgBB. Setelah dilakukan uji pendahuluan penetapan dosis dan uji protein, didapatkan jumlah kumulatif geliat pada masing-masing kelompok perlakuan, maka data diolah untuk didapatkan persentase penghambatan nyeri yang dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hasil yang dapat diperoleh dari sebagai berikut.



Gambar 2. Grafik rata-rata persentase penghambatan nyeri tiap kelompok

Keterangan:

Kelompok perlakuan 1: kelompok yang diberi aquades. Kelompok perlakuan 2: kelompok yang diberi paracetamol. Kelompok perlakuan 3: kelompok yang diberi perlakuan ekstrak kasar nanas. Kelompok perlakuan 4: kelompok yang diberi dosis kombinasi 1/2:1/2. Kelompok 5: kelompok yang diberi dosis kombinasi 1:1.

Pada penelitian ini interaksi antara kombinasi ekstrak kasar nanas dianalisis menggunakan software *CompuSyn* untuk menentukan apakah interaksi kombinasi ekstrak kasar nanas dan paracetamol dengan perbandingan dosis 1:1 dan dosis 1/2:1/2 memiliki efek sinergis, aditif, atau antagonis.

Tabel 2. Hasil uji interaksi kombinasi ekstrak kasar nanas dan paracetamol

Kelompok	Fa	CI value
Kombinasi 1:1	0,7126	0,74152
Kombinasi 1/2:1/2	0,7712	0,28785

Keterangan:

Fa: persen penghambatan nyeri

CI: Nilai interaksi

Pembahasan

Persentase penghambatan nyeri dari kelompok uji dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis dilanjutkan menggunakan aplikasi *CompuSyn* untuk mengetahui efek kombinasi perlakuan yang diujikan. Hasil yang diperoleh dari analisis Kruskal-Wallis didapatkan nilai $p = 0,002$. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada masing masing kelompok. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan efektivitas antara pemberian paracetamol dan ekstrak kasar nanas dosis tunggal dibandingkan dengan pemberian kombinasi paracetamol-ekstrak kasar nanas.

Paracetamol memang sudah terbukti secara klinis sebagai penghambat nyeri yaitu dengan menghambat sintesis prostaglandin. Dari hasil penelitian didapatkan hasil persentase penghambatan nyeri yang dimiliki paracetamol yaitu $52,23 \pm 3,94\%$.

Pada kelompok perlakuan dengan ekstrak kasar nanas menunjukkan pada dosis kombinasi terdapat peningkatan persentase penghambatan nyeri. Hal ini berkaitan dengan kemampuan bromelain yang terkandung dalam ekstrak kasar nanas sebagai salah satu agen analgesik dengan dihambatnya sintesis prostaglandin melalui penghambatan sintesis bradikinin. Sama halnya dengan paracetamol yang berkerja menghambat sintesis prostaglandin, efek analgesik yang dihasilkan dalam perlakuan kombinasi memiliki kemampuan persentase penghambatan nyeri lebih besar.

Bromelain yang terkandung dalam nanas dapat menurunkan sintesis PGE_2 dan substansi P, sehingga beberapa penelitian menyatakan bahwa bromelain memiliki efek analgesik dan anti inflamasi [2]. Efek analgesik yang dimiliki oleh bromelain dalam ekstrak kasar nanas dihasilkan karena adanya aktivitas proteolitik enzim. Pada jalur penghambatan sintesis prostaglandin dan plasmakinin, bromelain dapat mengurangi sensasi nyeri yang dihasilkan [6]. Walker *et al.*, 2002, dalam penelitiannya menyatakan bahwa bromelain dapat menurunkan sensasi nyeri pada pasien osteoarthritis secara signifikan dalam penggunaan sebulan. Akhtar *et al.*, 2004, meneliti mengenai efektivitas penggunaan enzim kombinasi, ERC (*Enzyme-rutin combination*) yang mengandung enzim rutin, enzim tripsin, dan enzim bromelain, per oral dibandingkan dengan diklofenak memiliki efektivitas yang hampir setara sebagai agen analgesik. Tidak seperti diklofenak yang menunjukkan toksisitas

yang relatif tinggi, ERC memiliki keamanan lebih baik dan dapat ditoleransi oleh tubuh [7].

Bromelain memiliki efek analgesik dengan menurunkan sintesis bradikinin. Ketika bradikinin terlepas akibat adanya suatu respon inflamasi maka akan menstimulasi sintesis prostaglandin. Bila sintesis bradikinin dihambat, hal ini dapat menyebabkan penurunan sintesis prostaglandin sehingga dapat menurunkan sensasi nyeri yang dirasakan [1].

Hasil analisis data *Compusyn* pada kelompok kombinasi paracetamol 91 mg/KgBB dan ekstrak kasar nanas 40 mg/KgBB didapatkan nilai $F_a=0,7126$ dan nilai $CI=0,74152$. Nilai $F_a=0,7126$ berarti pada kelompok ini memiliki efek persentase penghambatan nyeri rata-rata sebesar 0,7126. Nilai CI pada kelompok ini adalah 0,72008 yang berarti bahwa nilai $CI < 1$ nilai ini memiliki arti kombinasi tersebut memiliki efek sinergis.

Pada kelompok kombinasi paracetamol 45,5 mg/KgBB dan ekstrak kasar nanas 20 mg/KgBB didapatkan nilai $F_a=0,7712$ dan nilai $CI=0,28785$. Nilai $F_a=0,7712$ berarti pada kelompok ini memiliki efek persentase penghambatan nyeri rata-rata sebesar 0,7712. Nilai CI pada kelompok ini adalah 0,27542 yang berarti bahwa nilai $CI < 1$ nilai ini memiliki arti kombinasi tersebut memiliki efek sinergis.

Daya proteksi pada kelompok kombinasi paracetamol dan ekstrak kasar nanas lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok dosis tunggal. Hal ini membuktikan bahwa kelompok kombinasi memiliki efektivitas lebih tinggi sebagai analgesik dibandingkan dengan kelompok lainnya. Meskipun begitu kelompok kombinasi memiliki interaksi yang berbeda apabila diberikan pada dosis yang berbeda pula.

Pada penelitian ini kombinasi dosis memiliki efek sinergis atau dengan kata lain memiliki efek saling menguatkan. Efek ini timbul dikarenakan baik paracetamol maupun ekstrak kasar nanas bekerja dengan menghambat produksi prostaglandin yang menyebabkan respon nyeri. Namun, dapat dilihat pada dosis kombinasi $\frac{1}{2}:\frac{1}{2}$ memiliki efek sinergisme yang lebih tinggi dibandingkan pada kelompok kombinasi dosis 1:1. Hal ini terjadi dikarenakan bromelain pada dosis yang lebih tinggi dapat mempercepat kerja obat lain sehingga kerja salah satu komponen yang dikombinasikan akan menjadi kurang efektif. Kandungan bromelain pada nanas akan menyuspensikan zat aktif (obat lain) hingga membuat bulk yang lebih lipofilik. Akibatnya adalah meningkatkan

absorpsi kandungan aktif lain dan kadar dalam darah meningkat.

Selain itu bromelain pada dosis yang tinggi dapat meningkatkan produksi IL-1 dan TNF sehingga meningkatkan adhesi dari leukosit [8]. Peningkatan adhesi leukosit akan menyebabkan meningkatnya pelepasan sel-sel radang dari sel darah putih. Bila terjadinya peningkatan sel radang, sintesis mediator penyebab nyeri (prostaglandin dan substansi P) dapat meningkat. Menurut Barrie (2011), kandungan bromelain pada ekstrak kasar nanas dapat menghambat sitokrom CYP2C9 yang merupakan bagian dari sitokrom P450 didalam hati yang berfungsi untuk konjugasi obat agar menjadi larut dalam air. Pada dosis bromelain yang lebih tinggi akan menyebabkan penghambatan yang lebih besar pada sitokrom ini sehingga paracetamol yang dikombinasikan akan sedikit yang terkonjugasi dan kadarnya akan menjadi tinggi dalam darah. Kadar paracetamol yang sangat tinggi dalam darah akan mengurangi efektivitas analgesik dari obat tersebut [2].

Adanya interaksi antara ekstrak kasar nanas dan paracetamol sebagai terapi kombinasi dapat terjadi karena kompetisi pada reseptor atau terjadi antara obat-obat yang bekerja pada sistem fisiologis yang sama. Hal ini dapat menimbulkan beberapa kemungkinan yang terjadi seperti meningkatnya efektivitas terapi, menurunkan efek samping yang ditimbulkan, tidak berefek, atau bahkan sebaliknya. Pada kelompok perlakuan dosis kombinasi, K4 dan K5, tidak ditemukan adanya potensi efek samping yang dominan dari masing-masing zat, baik paracetamol dan ekstrak kasar nanas. Belum ditemukan rujukan pasti mengenai efek samping yang akan ditimbulkan pada dosis kombinasi. Namun, perlu dilakukannya pemeriksaan lebih lanjut pada organ ataupun kadar enzim dari hewan coba untuk mengetahui adanya efek samping yang ditimbulkan.

Simpulan dan Saran

Pemberian kombinasi ekstrak kasar nanas dan paracetamol sebagai agen analgesik lebih efektif dibandingkan pada dosis tunggal dan pemberian kombinasi dosis tersebut memiliki efek sinergis.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji penentuan dosis tunggal dan kombinasi yang lebih efektif, potensi efek samping yang ditimbulkan, dan bisa

dikembangkan dalam kapasitas massal dengan biaya yang relatif murah.

Daftar Pustaka

- [1] Hilmi AA, Yunivita KV, dan Sadeli HA. The Analgesic Effect of Pineapple Fruit Juice on Mice. AMJ. 2014: Vol. 1(2)
- [2] Hidayat R. 2010. Efek Analgesik dan Anti Inflamasi Jus Buah Nanas (*Ananas comosus* L.) pada Mencit Betina Galur Swiss. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Univeritas Sanata Dharma.
- [3] Wilmana PF, Gan S. Analgesik-Antipiretik Analgesik AntiInflamasi Nonsteroid dan Obat Gangguan Sendi Lainnya Dalam: Farmakologi dan Terapi Edisi 5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik FK UI; 2007.
- [4] Katzung BG. Farmakologi Dasar dan Klinik (Basic & Clinical Pharmacology) Edisi 10. Jakarta: EGC; 2012.
- [5] Laurence DR, Bacharach AL. 1964. Evaluation of drug activities: pharmacometrics.
- [6] Bhattacharyya BK. Bromelain: An Overview. NPR. 2008: Vol. 7 (4): 359-363.
- [7] Tochi BN, Wang Z, Xu SY, Zhang W. Therapeutic Application of Pineapple Protease (Bromelain): A Review. PJN. 2008: Vol. 7(4): 513-520.
- [8] Kelly GS. Applications, Bromelain: A Literature Review and Discussion of its Therapeutic. Alt Med Rev. 1996: Vol. 1(4): 243-257.