

RELAKSASI ILEUM YANG DIINDUKSI SEROTONIN

RELAXES THE SEROTONIN INDUCED CONTRACTION OF ILEUM

Rulia Meilina^{1*}, Evi Depiana Gultom², Rahma Dewi³

^{1,3} Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ubudiyah Indonesia

²Fakultas Farmasi Institut Kesehatan Deli Husada

*Koresponding Penulis: rulia.meilina@uui.ac.id, evidepiana1@gmail.com, Rahmadewy09@gamil.com

Abstrak

salah satu penyebab terjadi IBS karena terjadi ketidakseimbangan fungsi serotonin. Serotonin. Banyak ditemukan di saluran gastrointestinal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek relaksi fraksi daun belimbing wuluh pada otot polos ileum yang diinduksi serotonin pada reseptor 5HT₃. Efek relaksasi Fraksi n-Heksan daun belimbing wuluh (FnHDBW), fraksi etil asetat daun belimbing wuluh (FEADBW) dan Fraksi sisa (FSDBW) dikontraksikan dengan seri konsentrasi serotonin (10^{-8} M sampai 3×10^{-4} M) dilakukan secara in vitro menggunakan organ ileum tikus yang diisolasi dalam larutan tirode. FEADBW memiliki nilai persen relaksasi dan nilai AUC yang paling tinggi dibandingkn dengan FnHDBW dan FSDBW yaitu sebesar $80,01 \pm 1,57\%$ dan $309,8278 \pm 3,2527$. Kesimpulan penelitian ini, FnHDBW, FEADBW dan FSDBW memiliki efek reaksi yang diinduksi oleh serotonin (5HT).

Kata Kunci: serotonin, 5HT₃, daun belimbing wuluh

Abstract

One of the causes of IBS is an imbalance in serotonin function. Serotonin. Many are found in the gastrointestinal tract. The study was aimed to investigate the relaxation effect of Averrhoa bilimbi fractions serotonin (5HT) -induced contraction of the Serotonin-3 (5HT₃) receptor. Relaxation effect of n-hexane fraction of Averrhoa bilimbi leaves (FnHDBW), ethyl acetate fraction of Averrhoa bilimbi leaves (FEADBW) and aqueous fraction (FSDBW) were contracted with serotonin concentration series (10^{-8} M to 3×10^{-4} M) carried out in vitro using an organ. rat ileum isolated in a tirode solution. FEADBW has the highest percentage relaxation value and AUC value compared to FnHDBW and FSDBW, namely $80.01 \pm 1.57\%$ and 309.8278 ± 3.2527 . The conclusion of this study, FnHDBW, FEADBW and FSDBW have serotonic-induced relaxation effects (5HT).

keywords: serotonin, 5HT₃, Averrhoa bilimbi

PENDAHULUAN

Belimbing wuluh dengan nama spesies *Averrhoa bilimbi* L. merupakan tanaman yang banyak dijumpai di daerah Indonesia. Tanaman belimbing wuluh dikenal sebagai tanaman obat.

Bagian yang digunakan diantaranya bagian bunga, buah, dan daun. Daun belimbing wuluh mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, glikosida, saponin, Steroid/ triterpenoid dan tanin (Dalimarta, 2008). Daun belimbing wuluh memiliki banyak khasiat pengobatan seperti pengobatan antiinflamasi (Meilina, Vamila, & Suanda, 2020). Selain itu daun belimbing wuluh juga memiliki efek relaksasi otot polos ileum marmut terisolasi yang diinduksi asetilkolin (Sari, 2015). Pada penelitian (meilina, Suwarso, & Dalimunthe, 2018) bahwa ekstrak etanol daun belimbing wuluh memiliki efek relaksasi terhadap ileum tikus. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa daun belimbing wuluh berkhasiat sebagai antibakteri, Anti diabetes, antihipertensi dan berkhasiat untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh gangguan pada saluran gastrointestinal seperti *Irritable Bowel Syndrome* (IBS) (Zakaria, Zaitun, Henie, Jais, & Zainuddin, 2007).

Irritable Bowel Syndrome (IBS) merupakan gangguan sistem gastrointestinal bersifat kronis yang ditandai oleh nyeri atau sensasi tidak nyaman pada abdomen, kembung dan perubahan kebiasaan buang air besar. IBS kumpulan dari gangguan yang melibatkan diare (IBS-D), sembelit (IBS-C), atau gejala bergantian (Camelleri, 2009). Diare merupakan kondisi ketidakseimbangan absorpsi dan sekresi air dan elektrolit. Salah satu manifestasi patofisiologis diare meningkatnya motilitas usus akibat kontraksi otot polos usus (Spruil & Wade, 2008). Tingginya morbiditas dan mortalitas diare menjadi perhatian utama pemerintah untuk melakukan penanganannya (Organization, 2012)

Beberapa penelitian menunjukkan salah satu penyebab terjadi IBS karena terjadi ketidakseimbangan fungsi serotonin (Vahedi, Ansari, Mir, & Jatzri, 2010). Serotonin atau 5-Hidroksitriptamin (5-HT) merupakan neurotransmitter. Serotonin ditemukan di Gastrointestinal dan SSP. Sekitar 95% serotonin pada tubuh manusia ditemukan di dalam usus dan 5% ditemukan di otak (Sikander, Rana, & Prasad, 2009). Sumber serotonin berasal dari triptofan terdapat di dalam makanan. Serotonin terlibat dalam beberapa penyakit seperti depresi kecemasan, migrain, sembelit, diare, mual dan muntah (Pytliak, Vargova, Mechirova, & Felsoci, 2011). Serotonin merupakan satu dari neurotransmitter yang terlibat dalam peningkatan motilitas usus melalui kontraksi dan relaksasi otot polos usus (Ikawati, 2006). Serotonin dapat menimbulkan sejumlah tindakan pada sel dan jaringan di dalam usus, termasuk sekresi epitel, aktivasi otot polos, stimulasi saraf ekstrinsik dan intrinsik dan aktivasi neuron kolinergik sehingga terjadi kontraksi otot polos (Costedio, Hyman, & Mawe, 2007). Pelepasan serotonin yang sangat tinggi dapat menyebabkan diare (Bertrand & Bertrand, 2009) hal ini sesuai pada penelitian (Dunlop, et al., 2005) yang menyimpulkan 5-HT meningkat pada diare dan menurun pada sembelit.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L). Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah etanol 96%, *n*-heksanetil asetat, aquadest, larutan tirode, gas karbogen mengandung 95% oksigen dan 5% karbondioksida (PT. Tri Gas), 5-hidroksitriptamin/serotonin (Shanghai Yuanye), *dimetil sulfoksida*/ DMSO (Merck).

Pembuatan Fraksi dari ekstrak etanol daun belimbing wuluh

Sebanyak 20 g ekstrak etanol daun belimbing wuluh (EEDBW) dilarutkan dalam etanol 96% sampai larut kemudian ditambahkan 40 ml air suling dimasukkan ke dalam corong pisah, lalu

ditambahkan 100 ml *n*-heksan, dikocok dan didiamkan sampai terdapat 2 lapisan yang terpisah ($\pm$ 30 menit). Lapisan *n*-heksan (lapisan atas) diambil dengan cara dialirkan dan fraksinasi dilakukan sampai lapisan *n*-heksan memberikan hasil negatif dengan pereaksi LB. Lapisan *n*-heksan yang dikumpulkan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh Fraksi *n*-heksan daun belimbing wuluh (FnHDBW). Kemudian pada residu ditambahkan 100 ml etilasetat, dikocok dan didiamkan sampai terdapat 2 lapisan yang terpisah ($\pm$ 30 menit), lapisan etilasetat (lapisan atas) diambil dengan cara dialirkan dan fraksinasi dilakukan sampai memberikan hasil negatif dengan pereaksi FeCl_3 . Lapisan etilasetat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh fraksi etil asetat daun belimbing wuluh (FEADBW). Lapisan air (sisa) diambil dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapat fraksi sisa (Bassett, Denny, Jeffrey, & Mendham, 1994).

Preparasi organ

Tikus jantan ditimbang dan dikorbankan dengan cara dislokasi leher. Dilakukan pembedahan pada bagian abdomen. Kulit bagian abdomen dipotong dan diambil bagian ileum kemudian direndam dengan larutan tirode. Usus dibersihkan dari lapisan *mesenteric* yang melindunginya, kemudian dipotong segmen usus bagian bawah yang mendekati *caecum* sepanjang 2-3 cm, selanjutnya kedua ujung potongan usus diikat dengan benang pada arah yang berlawanan. Benang bagian bawah ileum diikatkan pada batang penahan jaringan dan benang bagian atas ileum dihubungkan ke transduser. ileum dimasukkan ke dalam *organ bath* yang berisi larutan tirode, dengan suhu larutan dipertahankan 37°C sambil diaerasi dengan karbogen secara terus menerus. Jaringan yang telah terisolasi diinkubasi selama 30 menit dengan pergantian larutan tirode setiap 10 menit. Dibiarkan beberapa saat sampai kondisi ritmik yang optimal (Vogel, Bernward, Jurgen, Gunter, & Wolfgang, 2002).

Pengujian efek relaksasi fraksi dari daun belimbing wuluh pada otot polos ileum yang dikontraksikan dengan serotonin

Ileum tikus dikondisikan dengan larutan tirode dalam *organ bath* yang terhubung pada transduser isometrik. Ileum dikontraksikan dengan larutan serotonin EC_{80} sehingga diperoleh konsentrasi submaksimum yang stabil kemudian diberikan konsentrasi bertingkat dari fraksi dari daun belimbing wuluh (0.5–4 mg/mL) (Pang, Xu, Zhang, Zheng, & Qu, 2002).

Analisis Data

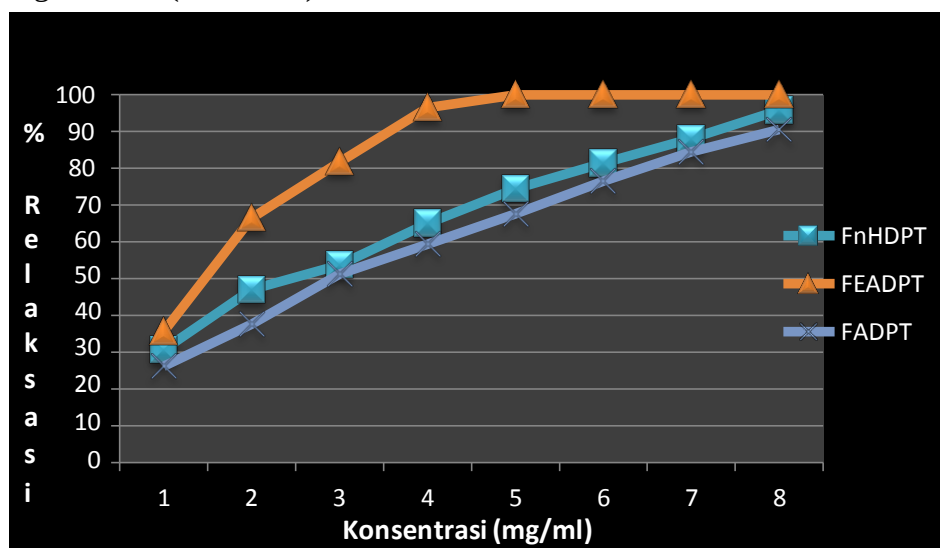
Data yang diperoleh dalam penelitian ini adalah data kontraksi atau relaksasi otot polos ileum tikus pada LabChart. Selanjutnya, dibuat grafik hubungan antara konsentrasi terhadap % respon. Nilai EC_{80} (konsentrasi agonis yang dapat menghasilkan respon sebesar 80% dari respon maksimum) agonis reseptor, dihitung berdasarkan grafik hubungan konsentrasi terhadap % respon. Selanjutnya, data disajikan dalam bentuk tabel dan nilai rata-rata $\pm$ SEM (Standar Error mean). Data % relaksasi dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan *post hoc test* Tukey HSD.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengujian Efek Relaksasi Fraksi Daun belimbing wuluh Pada Otot Polos Ileum Tikus yang dikontraksikan dengan Serotonin

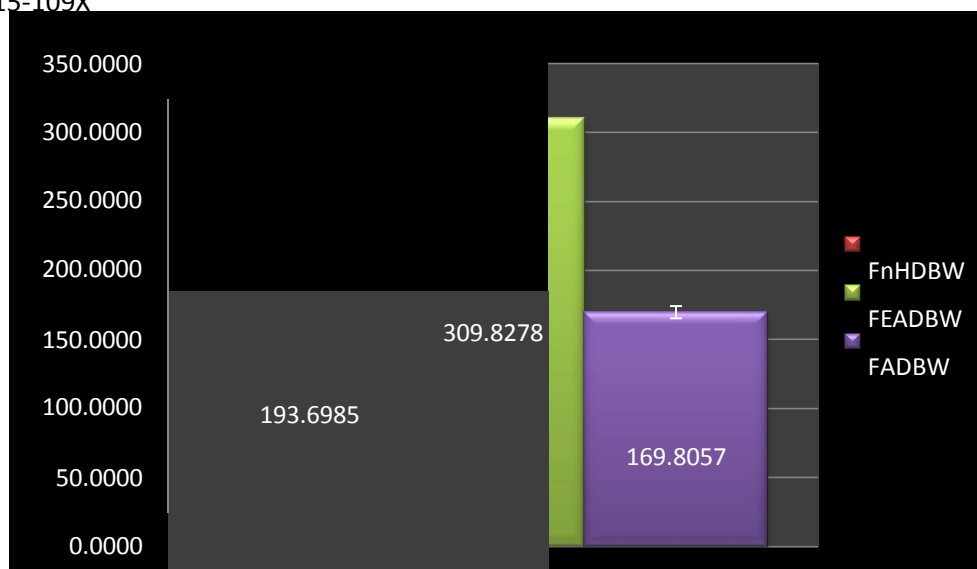
Pengujian kontraksi otot polos ileum tikus terisolasi dengan penambahan konsentrasi bertingkat serotonin (10^{-8} M sampai 3×10^{-4} M) dilakukan untuk mendapatkan *effective concentration* (EC_{80}) serotonin yang selanjutnya akan digunakan untuk pengujian efek relaksasi fraksi daun belimbing wuluh. Hasil pengujian konsentrasi serotonin diperoleh data hasil pengujian yang dilakukan oleh (meilina, Suwarso, & Dalimunthe, 2018) yaitu sebesar $1,158 \times 10^{-6}$ M.

Pengujian efek relaksasi fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi sisa daun belimbing wuluh terhadap otot polos ileum tikus terisolasi dilakukan dengan cara mengontraksikan otot polos ileum tikus dengan serotonin $1,158 \times 10^{-6}$ M lalu dilanjutkan dengan pemberian masing-masing seri konsentrasi ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh 0,5- 4 mg/mL. Efek relaksasi ekstrak dan fraksi diamati melalui pengamatan terhadap perubahan % efek relaksasi ekstrak dan fraksi pada organ ileum (Gambar 1)



Gambar 1. Grafik % relaksasi setelah pemberian seri konsentrasi fraksi daun belimbing wuluh pada otot polos ileum tikus terisolasi yang dikontraksikan dengan serotonin $1,158 \times 10^{-6}$ M (rerata $\pm$ SEM, $n = 3$).

Pemberian seri konsentrasi ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh menghasilkan efek relaksasi terhadap kontraksi otot polos ileum tikus yang diinduksi oleh serotonin $1,158 \times 10^{-6}$ M. Hasil uji ANOVA % relaksasi FnHDBW, FEADBW, dan FSDBW pada konsentrasi 0,5 - 4 mg/ml, dengan $n = 3$, diperoleh nilai signifikansi 0,00 yang artinya terdapat perbedaan yang bermakna antara masing-masing data ekstrak dan fraksi. Efek relaksasi maksimum ditunjukkan oleh FEADBW konsentrasi 2,5 mg/ml ($100 \pm 0,00$ %). Pada konsentrasi 4 mg/ml FnHDBW dan FADBW menunjukkan efek relaksasi masing-masing sebesar $80,01 \pm 1,57\%$ dan $73,20 \pm 2,15\%$. Efek relaksasi ekstrak dan fraksi juga diuji dengan membandingkan nilai total AUC dari EEDBW, FnDBW, FEADBW dan FSDBW pada konsentrasi 0,5 sampai 4 mg/ml (Gambar 2).



Gambar 2. Grafik AUC % relaksasi total seri konsentrasi ekstrak dan fraksi daun belimbing wuluh (0,5 - 4 mg/ml) pada otot polos organ ileum tikus terisolasi yang dikontraksikan dengan serotonin $1,158 \times 10^{-6}$ M. (rerata AUC $\pm$ SEM, n = 3)

Nilai AUC diuji secara statistik dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan *post hoc test* Tukey HSD, diperoleh nilai AUC tertinggi pada FEADBW sebesar $309,8278 \pm 3,2527$ yang berbeda signifikan dengan EEDBW, FhHDBW dan FSDBW. Nilai AUC diuji secara statistik dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan *post hoc test* Tukey HSD, diperoleh nilai AUC tertinggi pada FEADBW sebesar $309,8278 \pm 3,2527$ yang berbeda signifikan dengan EEDBW, FhHDBW dan FSDBW. Dari hasil data relaksasi dan nilai AUC, menunjukkan bahwa FEADB dapat dikatakan memiliki efek relaksasi yang paling tinggi terhadap kontraksi otot polos ileum tikus yang diinduksi serotonin dibandingkan dengan FhHDBW dan FADBW.

Tumbuhan tradisional yang kaya flavonoid dan gugus fenol dapat digunakan sebagai vasorelaksasi (Torres, et al., 2011). Flavonoid diketahui dapat menimbulkan efek relaksasi pada otot polos (Carron, et al.). Beberapa senyawa dilaporkan memiliki efek relaksasi otot polos pada reseptor muskarinik, seperti flavonoid (Harahap, Yuliasmi, Husori, & Ernawaty, 2015). Flavonoid memiliki penghambatan kontraksi pada otot polos kandung kemih (Villette, et al., 2010). Flavonoid memiliki aktivitas antagonis pada reseptor M_3 (Patil, Ahale, & Surana, 2011). Steroid saponin dapat menghambat asma bronkial melalui penghambatan pelepasan mediator seperti prostaglandin, histamin, serotonin dan bradikinin (Speroni, et al., 2005). Tanin berperan dalam menurunkan tekanan darah dan relaksasi pada otot jantung yang terisolasi (Khan dan Gilani, 2008). Berdasarkan data hasil penelitian (Meilina, Suwarso, & Dalimunthe, 2018) daun belimbing wuluh mengandung metabolit sekunder golongan flavonoid, tanin, glikosida, saponin dan steroid/triterpenoid. Relaksasi otot polos diketahui terjadi setelah *uptake* Ca^{2+} intraseluler menuju retikulum sarkoplasma dan melalui pengeluaran Ca^{2+} ke ekstraseluler (efluks) yang menyebabkan kadar Ca^{2+} intraseluler menurun drastis sehingga menghambat pembentukan kompleks kalsium-kalmodulin yang diperlukan untuk kontraksi. Kemungkinan daun belimbing wuluh bekerja mempengaruhi proses *uptake* Ca^{2+} intraseluler menuju *calcium store* di retikulum

sarkoplasma dan mempengaruhi proses efluks Ca^{2+} . Seperti yang diketahui kontraksi otot polos ditentukan oleh konsentrasi Ca^{2+} dalam sitosol. Peningkatan konsentrasi Ca^{2+} dalam sitosol

dicapai melalui pelepasan Ca^{2+} dari retikulum sarkoplasma dan melalui influks Ca^{2+} (Bazzazi, Kargacin, & Kargacin, 2003). Peningkatan kadar kalsium membentuk kompleks kalsium-kalmodulin yang akan mengaktifkan *myosin light chain kinase* (MLCK). Hasil aktivasi MLCK akan membentuk ikatan silang antara aktin dan miosin yang menyebabkan kontraksi otot polos (Harahap, et al., 2017).

DAFTAR PUSTAKA

- Bassett, J., Denny, R. C., Jeffrey, G. H., & Mendham, J. (1994). *Buku Ajar Vogel: Kimia Analisis Kuantita tif Anorganik*. (Vol. 4). Jakarta: EGC.
- Bazzazi, H., Kargacin, M. E., & Kargacin, G. J. (2003). Ca^{2+} Regulation in the Near-Membrane Microenvironment in Smooth Muscle Cells. *85*, 1754-1765.
- Bertrand, P. P., & Bertrand, R. L. (2009). Serotonin Release and Uptake in The Gastrointestinal Tract. .
- Camelleri, M. (2009). Serotonin In The Gastrointestinal Tract. . *16(1)*: 53–59.
- Carron, R., Sanz, E., Puebla, P., Martin, M. L., Roman, L. S., & Guerrero, M. F. (n.d.). Mechanisms of Relaxation Induced by Flavonoid Ayanin in Isolated Aorta Rings from Wistar Rats. *41(1)*: 1-7.
- Costedio, M. M., Hyman, N., & Mawe, G. M. (2007). Serotonin And Its Role In Colonic Function And In Gastrointestinal Disorders. *Vol. 50, No. 3*.
- Dalimarta, S. (2008). *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 5*. Jakarta: Pustaka Bunda .
- Dunlop, S. P., Coleman, N. S., Blakshaw, P. W., Perkin, A. C., Singht, G., & Marsden, C. A. (2005). Abnormalities Of 5-Hydroxytryptamine Metabolism In Irritable Bowel Syndrome. *Clin Gastroenterol Hepato*, *3*:349–357. [PubMed: 15822040].
- Harahap, U., Husori, D. I., Mariane, Yuliasmi, S., Patilaya, P., & Laila, L. (2017). Inhibitory Effect of Ethanolic Extract of Curanga Fel-Terrae (Pugun Tano) Leaves on Acetylcholine Muscarinic-3 Receptors Induced on Isolated Guinea Pig Tracheal. *Vol 10*, (Issue 1).
- Harahap, U., Yuliasmi, S., Husori, D. I., & Ernawaty. (2015). *Sistem Saraf Perifer dan Kontribusi Bahan Alam Untuk Memahami Fungsi dan Mekanismenya*. Medan: USU Press.
- Ikawati, Z. (2006). *Pengantar Farmakologi Molekuler*. Yogyakarta: Gajah mada University Press.

- meilina, r., Suwarso, E., & Dalimunthe, A. (2018). RELAXATION EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT OF AVERRHOA BILIMBI L. LEAVES ON ILEUM. *Asian journah of pharmaceutical and clinical research*, 135-137.
- Meilina, R., Vamila, p. M., & Suanda, J. (2020). Anti-inflammatory effect of ethanolic extract gel of Averrhoa bilimbi L. leaves. *AIP conference Proceeding*. 2291, Issue 1. AIP conference Proceeding.
- Organization, W. G. (2012). *Acute Diarrhea In Adults And Children: A Global Perspective. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines*.
- Pang, J. J., Xu, X. B., Zhang, X. Y., Zheng, T. Z., & Qu, S. Y. (2002). *Inhibition of β -estradiol on Trachea Smooth Muscle Contraction in vitro and in vivo* (Vols. 23 (3), 273-277). *Acta Pharmacol. Sin*.
- Patil, D. S., Ahale, S. V., & Surana, S. J. (2011). Evaluation of antiasthmatic and antianaphylactic activity of Balanites aegyptiaca (Delile), (Balanitaceae). 4(1):52-5.
- Pytliak, M., Vargova, V., Mechirova, V., & Felsoci, M. (2011). Serotonin Receptors – From Molecular Biology to Clinical Applications. 60: 15-25.
- Sari, P. D. (2015). *Efek Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) Terhadap Kontraksi Otot Polos Ileum Marmut Jantan (Cavia porcellus) Terisolasi*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Sikander, A., Rana, I. S., & Prasad, K. K. (2009). Role of Serotonin in Gastrointestinal Motility and Irritable Bowel Syndrome.
- Speroni, E., Cervellati, R., Innocenti, G., Costa, S., Guerra, M. C., & Dall, A. (2005). Anti-inflammatory, anti-nociceptive and antioxidant activities of Balanites aegyptiaca (L.) Delile. 98(1-2):117-25.
- Spruil, W. J., & Wade, W. E. (2008). *Diarrhea, Constipation, And Irritable Bowel Syndrome. Dalam: Dipiro, J.T.* (Vol. Edisi VII.). New York: Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach.
- Torres, P. M., Figueroa, M., Hernandez, A., Ibarra, B. M., Navarrete, V. G., & Estrada, S. S. (2011). Vasorelaxant effect of flavonoids through calmodulin inhibitor: ex vivo, in vitro, and in silico approaches. 19: 542-546.
- Vahedi, H., Ansari, R., Mir, N. M., & Jatzri, E. (2010).). Irritable Bowel Syndrome: A Review Article.
- Villetti, G., Pastore, F., Bergamaschi, M., Bassani, F., Bolzoni, P. T., & Battipaglia, L. (2010). Bronchodilator activity of (3R)-3-[[[(3-fluorophenyl)](3,4,5-

trifluorophenyl)methyl]amino] carbonyl]oxy]- 1-[2-oxo-2-(2-thienyl)ethyl] -1-azoniabicyclo[2.2.2]octane bromide (CHF5407), a potent, long-acting, and selective muscarinic M3 receptor antagonist. 335 (3).

Vogel, H. G., Bernward, A. S., Jurgen, S., Gunter, M., & Wolfgang, F. V. (2002). *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays*. Germany: SpringerVerlag Berlin Heidelberg.

Zakaria, Z. A., Zaitun, H., Henie, E. K., Jais, M. A., & Zainuddin, E. (2007). In Vitro Antibacterial Activity of Averrhoa bilimbi Leaves and Fruits Extrats. . 2(3).